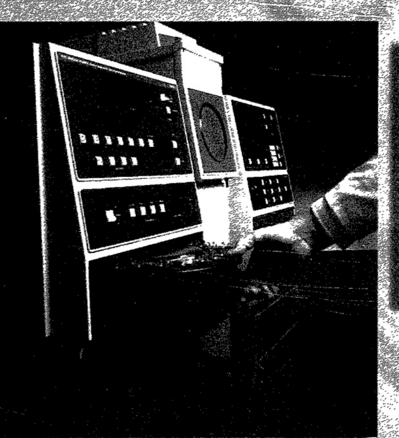
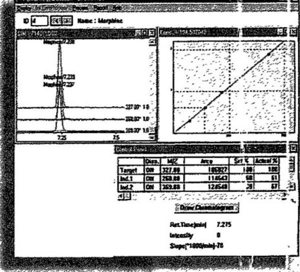
التحليل الدقيق لمتبقيات السموم والملوثات البيئية فى مكونات النظام البيئى







ا.د فتحى عبد العزيز عفيفى

دار الفجر للنشر والتوزيع

التحليل الدقيق

لمتبقيات السموم والملوثات البيئية

في مكونات النظام البيئي

التحليل الدقيق

لمتبقيات السموم والملوثات البيئية

في مكونات النظام البيئي

تأليف

أ.د . فتحي عبد العزيز عفيفي

أستاذ كيمياء المبيدات والسموم

د.خالد عبد العزيز محمد

مدرس كيمياء المبيدات

دار الفجر للنشر والتوزيع

رقـم الإيـداع
2000 / 2645
الترقيم الدولي I.S.B.N.
977- 5499 - 61 - 5

دار الفجـر للنشـر والتـوزيـع
4 شارع هاشم الأشقر - النزهة الجديدة - القاهرة
تليفون : 2944119 (00202)
فاكس : 2944094 (00202)

المحتويات

مقدمة

أدت ثورة التطور العلمي والصناعي الهائل في صناعة الكيماويات بمختلف أنواعها علاوة علي الاستخدام المكثف والعشوائي الغير واعي للكيماويات الزراعية كالأسمدة ومبيدات الآفات بجانب زيادة الكتلة البشرية وما يتبعها من زيادة الأنشطة البشرية المختلفة إلي تمعظم وتزايد مشكلة التلوث البيئي وبمستويات ملحوظة ومتفاوتة في مكونات النظام البيئي كالمياه (مياه الأنهار والبحيرات ومياه البحار والمحيطات والبحيرات المالحة) والهواء الجوي والتربة / ترسبات والمواد الغذائية المستخدمة في الغذاء الآدمي والحيواني وأخيراً يصل محتواهم للكتلة الحية والتي يتربع علي رأسها الإنسان .

ونتيجة لذلك تمعظم أيضا دور التحليل الدقيق والمتعدد لمتبقيات السموم والملوثات البيئية في مكونات النظام البيئي خاصة بعد أن بلغت الدقة والكفاءة في عملية التحليل حتي تركيزات ضئيلة للغاية بلغت الجزء في البليون والجزء في التريليون من الجرام وهو ما يعني الكشف عن النانوجرام والبيكوجرام من متبقيات السموم والملوثات البيئية .

وتزيد من صعوبة الكشف والتقدير خاصة مع الأفراد عديمي الخبرة في هذا المجال الدقيق ولهذا تلعب الخبرة للقائم بعمليات التحليل دوراً كبيراً من حيث إختيار الطرق الطرق التي تؤدي إلي الحصول علي نتائج مرضية بأقل جهد ووقت وكيماويات وهو بدوره ما يقلل معه تكاليف عمليات التحليل والتي أصبحت باهظة التكاليف الآن ، وعليه فاختيار الطريقة المناسبة في التحليل تعد من الأمور الصعبة من حيث مقدرتها علي الكشف عن المركب الأصلي ونواتج تمثيله نوعيا وكميا وبكفاءة عالية .

ونحن في هذا الصدد نقدم إحدي الإصدارات باللغة العربية والتي تفتقدها المكتبة العربية والتي تتناول الإعتبارات الواجب مراعاتها عند التحليل المتعدد لمتبقيات السموم في مكونات النظام البيئي وأسس عمليات

الإستخلاص والتنقية لمتبقيات السموم والملوثات البيئية في العينـــات البيئيــة والبيولوجية والفصل الكروماتوجرافي بالأعمدة والـــورق والتفريـد اللونـــي الدقيق والطرق الإسبكتروفوتومترية كطيف الامتصاص في منطقـــة الأشــعة المرئية وفي منطقة الأشعة فوق البنفسيجية ومنطقة الأشعة تحت الحمـــراء و الإنبعــاث الــذري كفوتومــتر وإســبكتروفوتومتر اللــهب والفلوروســنس والوسفورسنس والإمتصاص الذري كذلك التحليل الطيفي بـــالرنين النــووي المغناطيسي وطيف الكتلة ومطياف الكتلة والكروماتوجرافي الغازي والغــازي السائل و كروماتوجرافي السائل عالي الأداء والتي نأمل أن تكـــون إضافـــة مرجعية وعلمية وتطبيقية للقائمين بالعمل في هذا المجال .

والله نسأل أن تكون جهداً وإضافة ينتفع بها في هذا المجال

والله ولي التوفيق

المؤلفان

الباب الأول

الإعتبارات الواجب مراعاتها عند التحليل المتعدد الدقيق لمتبقيات السموم والملوثات البيئية في مكونات النظام البيئي

الإعتبارات الواجب مراعاتها عند التحليل المتعدد الدقيق لمتبقيات السموم في مكونات النظام البيئي :

تمثل عمليات أعداد وخلط العينات لتقدير مستويات الملوثات بها عامل هام ومؤثر في دقة النتائج المتحصل عليها حيث أن وجود العينة الممثلة للوسط المأخوذة منه وسبل توجيهها للمعمل للحفاظ على السلامة الكيميائية لمتبقيات السموم بها مع الأخذ في الإعتبار عشوائية العينة وحجم العينة والذي يحدده مستوى الحساسية والدقة المطلوبة ، كل هذه الأمور تعتبر من الإنطلاقات الصحيحة للحصول على تحليل جيد لمتبقيات السموم في الأنظمة البيئية المختلفة حيث تأتي عمليتي الاستخلاص والتنقية والتي تختلف بإختلاف المتبقيات المراد تقديرها وطبيعة المادة المستخلصة وفي نفس الوقت لابد وأن تكون ذات كفاءة ومقدرة عالية في إسترجاع متبقيات السموم (Recovery) مع أقل قدر ممكن من المواد الدخيلة والتي يتم الكشف عنها باستخدام أجهزة التحليل الدقيق والتي نالت تقدماً رهيباً في الآونة الأخيرة ومن أجل ذلك فأنه يجب مراعاة بعض الإعتبارات أثناء العمل للوصول إلى نتائج جيدة والمتمثلة في :

١ ـ اعتبارات تراعى قبل أخذ العينات البيئية والبيولوجية للتحليل الدقيق للمتبقيات بها :

يجب مراعاة الاعتبارات التالية قبل أخذ العينات بمختلف أنواعها سواء أكانت :

١–عينات بيئية (Environmental samples) : وتشمل

- عينات الهواء
- عينات المياه كمياه الأنهار والبحيرات العذبة والبحار والبحيرات المالحة والمحيطات
- عينات تربة

٢–العينات البيولوجية (Biological samples) : وتشمل

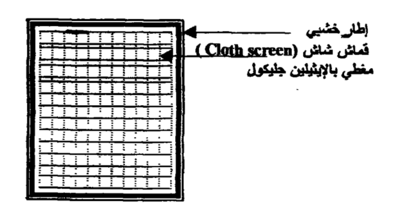
- كعينات الأنسجة الحيوانية
- عينات البشرية بمختلف أنواعها

ليتسنى توحيد المقاييس المتبعة في تحليل متبقيات السموم وذلك للحد بقدر الإمكان من التفاوت في الاختلافات الفردية سواء في :

١-١-الوسط المراد تحليل المتبقيات به :

حيث تتفاوت الاعتبارات المراعاة قبل أخذ العينة تبعاً لنوعية الوسط الطبيعي أو الوسط الحيوي الذي تسقط فيه أو عليه مخلفات المواد السامة (Deposits) أو الملوثات البيئية (Environmental pollutants) والمراد تحليل متبقياتها (Residws analysis) : . .

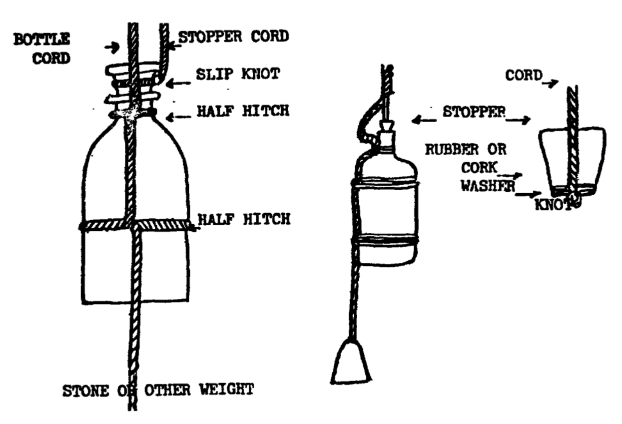
١-١-١-هواء (Air) : وتؤخذ عينات الهواء بطرق مختلفة أهمها ستارة القماش (Cloth screen) والمشبعة بمخلوط ١٠ % أيثيلين جليكول في الأستون والمثبتة في إطار خشبي وتوضع في أماكن أخذ العينة لمدة ٢٤ ساعة ويعيب علي هذه الطريقة عدم معرفة كمية الهواء التي تمر خلال الثقوب الدقيقة بالستارة والتي ينسب لها كمية الملوثات بعد ذلك ولكنها تمتاز بأنها غير مكلفة وتعطى فكرة مبدئية عن مدى التلوث الموجود بالمنطقة وهناك وحدة آخذ العينات الصلب (Solid sampler) وهو عبارة عن أنبوبة زجاجية تحتوى على مادة أدمصاص يمر عليها الهواء ثم يحصل على السموم والملوثات بازاحتها من على مادة الأدمصاص وهناك أيضاً وحدة أريمبرج-سميث (Aremburg – Smith impinger system) والتي يوضع بداخلها إيثيلين جليكول ثم يمرر الهواء خلالها بمعدل ٢٨,٣ لتر / دقيقة لمدة ١٢ساعة وهناك العديد من وحدات أخذ العينات والتي تسوق تجارياً لهذا الغرض ، شكل رقم (١ - ١)



شكل رقم (١-١) : وحدة أخذ عينات الهواء

١ ـ ١ ـ ٢–المياه (Water) :

وفيه تستخدم وحدات خاصة لأخذ العينات المائية سواء من الأنـــهار أو البحار أو المحيطات أو مياه الترع والمصـــــارف مـــن الأعمـــاق المختلفـــة المرغوبة وبالأحجام المطلوبة وأبسط هذه الوحدات زجاجـــة أخـــذ العينـــات المائية شكل رقم (١ ـ ٢)



شكل رقم (١–٢) وحدة أخذ عينات المياه من أعماق مختلفة

١ ـ ١ ـ ٣ : التربة (Soil) :

ويتم أخذ عينة التربة السطحية عن طريق الكشط أو الحفر حتى عمـق ٥ سم (٢ بوصة) أما باطن التربة فتأخذ العينـــة الممثلـــة باســتخدام أجـــهزة متخصصة لأخذ العينات من على أعماق مختلفة •

١-١-٤-التربة الرسوبية (Sediment) :

تؤخذ عينات الرسابة (الوحل) من قاع الأنهار أو البحار أو المحيطات أو الترع والمصارف بواسطة معدات خاصة تشبه إلى حد كبير المعدات التي تستخدم في تطهير الترع والمصارف •

١-١-٥-أسطح نباتية ورقية أو ثمرية (Plant surfaces) :-

حيث يؤخذ عدد من العينات من كل وحدة تجريبية والتي يتوقف عددها على المساحة المربعة وبصفة عامة فإنه يجب بقدر الإمكان أخذ العينات الأولية بأسرع ما يمكن مع تسجيل الملاحظات الخاصة بذلك وأن يكون عامل الخبرة متوفر لدى الأفراد القائمين بجمع العينة •

ومما هو جدير بالذكر أن كمية الراسب المتخلف عقب معاملة سطح نباتي تختلف من حيث نوعية وطبيعة وشكل هذا السطح المترسبة : الواقعة عليه (Deposit) وكذلك تركيبة الخارجي :

- فكمية المتبقيات بأسطح أوراق البرتقال أعلى كثيراً عن أسطح أوراق الليمون
- في نفس الوقت فكمية المترسب على الأوراق أكبر من المترسبة على الثمار بنفس النبات
- أيضاً تحتفظ الأسطح الشمعية والزيتية (Waxy and Oleo surfaces) بكمية أكبر من المترسبات خاصة المركزات الزيتية (Oil Concentrates) والمستحلبة (Emulsions) والقابلة للبلل (Wettaple) وذلك نتيجة قابليتها للذوبان بها وسرعة إختراقها وتخللها (Penetration) لأنسجتها .
- في نفس الوقت تختلف كمية المترسب تبعاً لموضع وكثافة وشكل الورقة النباتية فالأوراق الكبيرة والعريضة والمجعدة وكثيفة الشعيرات أو الزغب والخشبية والدقيقة تستحوذ على كمية أكبر من المترسبات عن مثيلتها الصغيرة والضيقة (نصلية) والملساء قليلة الشعيرات والرأسية وتزيد قدرتها على الاحتفاظ بها .
- وكذلك تقل كمية متبقيات المترسب في منطقة القمم النامية حيث يغلفها الغمد ويحميها ويعد هذا الفرق المورفولوجى لها أساساً لاختيارية التأثير (Selective effect) •

- كما تقل كمية متبقيات المترسب على الأسطح المعاملة في الإتجاه الشمالي عن مثيلتها في الإتجاه الجنوبي (إتجاه حركة الرياح)
- الأوراق النباتية حديثة النضج أقل في قابليتها للبلل (Wettability) عن مثيلتها الناضجة .
- أيضاً تنخفض كمية المترسب على السطح السفلي للورق (Lower surface) عن السطح العلوي المقابل للمعاملة (Upper surface) .
- أيضاً تنخفض كمية المترسب في المنطقة الوسطى للنبات (Middle portion) عن القمة العلوية لها (Top portions) وتنخفض أكثر بمنطقة قاعدة النبات والتي لا تفضلها الآفة كثيرا لتغلظها وقربها من سطح الأرض حيث تيارات الحمل الصاعدة والأعداء الحيوية (فتحي عفيفي وآخرون) وعليه تأخذ كمية المترسبات الترتيب التنازلي التالي :

(Top portions >middle portions >Bottom portions)

- كذلك تلعب فسيولوجية السطح الحيوي المعامل دورها في الاستحواذ وإستمرارية استحواذها على المتبقيات فبعضها يفرز مواد حمضية على السطح تذوب في الأغشية المائية المتواجدة طبيعياً على سطح الورقة مما يؤدى بدورة لزيادة معدل ذوبان تركيبات مترسبة فيعاد امتصاصها أو تخللها للداخل مرة أخرى

ومن هنا يتبين لنا أهمية نوعية السطح العامل من حيث تفاوت درجة اختراق وتخلل وامتصاص متبقيات المترسبات عليه إلى أنسجته الداخلية (Surface residues) وترتفع تدريجياً كمية متبقيات المتخلف الداخلي (Internal residus) .

١ – ١ – ٦ –العينات البيولوجية (Biotic samples) :

سواء كانت عينات حيوانية أو بشرية فتشمل الأنسجة الدهنية المستأصلة من نسيج حي حيث يكفي جرام واحد فقط من الدهن المتحصل عليه من تشريح النسيج الحي أو الجثة وقد تشمل هذه العينات الدم حيث يؤخذ حجم ٨ – ١٠ ملل من الدم وقد تشمل البول حيث يجمع ٢٥ ملل على الأقل في وعاء نظيف ... الخ .

وقد تشمل هذه العينات البيولوجية الأسماك وغيرها من الكائنات الحية الموجودة بالبيئات المائية حيث يكفي بضعة سمكات صغيرة تعطى ١٠٠ حجم بروتين على الأقل أما الأسماك الكبيرة فعلى حسب الغرض من التحليل حيث فقد تقدر السموم في العضلات أو الرأس أو الأحشاء الداخلية .

١-٢-تاريخ المعاملة السابقة :

حيث يجب معرفة تاريخ المعاملة السابقة لمترسبات ومتبقيات المعاملة المراد تحليل متبقياتها سواء أكان التحليل نوعي (Qualitative analysis) أو تحليل كمي (Quantitative analysis) إن وجد وذلك بغرض تجنب وتحاشي حدوث تداخلات في نتائج التحليل وهو ما يعطى بدورة نتائج مشكوك في صحتها ولهذا لابد وأن يزود القائم بعملية التحليل بالبيانات الكافية لإعطاء فكرة واضحة من مدى التداخل والتلوث السابق الموجود .

وعند الاضطرار لتحليل متبقيات في أو على سطح ما(طبيعي أو حيوي) سبق معاملته أو تلوثه من قبل فإنه يتم أولاً تقدير مستوى المتبقيات الناتجة عن المعاملة السابقة (تقدير كمي) وكذلك نوعية هذه المتبقيات وممثلاتها (Metabolites) وهو ما يعرف بالتقدير النوعي أو الكيفي وذلك كعامل ثابت يؤخذ في الإعتبار عند تقييم مستويات المتبقيات الجديدة .

كذلك يجب معرفة تاريخ ونوعية وكمية أي معاملات أخرى سابقة أو متزامنة أو لاحقة للمعاملة الجديدة سواء أكانت معاملات تغذية (مغذيات وأسمدة خاصة الأسمدة الغير عضوية الثابتة لفترات طويلة) ومنظمات النمو وشبيهاتها والسموم خاصة ذات الأثر المتبقي الطويل (Long Residual Effect) كالسموم الهيدروكربونية العضوية الكلورونية وعلى وجه الخصوص عندما تعتمد طريقة تحليل المتبقيات على تقدير أيون الكلوريد خاصة وأن استمرارية إحتمال التلوث بها قائم ولا يمكن تجاهله بصفة مطلقة ولفترة طويلة تصل في بعض المركبات لعشرات السنين في مكونات النظام البيئي (Environmental Components) كالهواء والمياه والتربة والكتلة الحية (Biomass)

وقد يكون تقدير المتبقيات لمركب ما وكانت المعاملة السابقة له بمركب آخر ولكن من نفس عائلة المركب الأول وهو ما يؤدى بدورة لحدوث تتداخل في كمية المتبقيات الحالية وتتداخل أكبر في تحولات المركب سواء أكانت تحولات طبيعية بفعل عوامل البيئة (Transformations) أو تحولات حيوية
• (Biotransformations : Metabolism)

كذلك يجب ملاحظة أنه عند تصميم وإجراء التجارب البحثية عدم تجاوز قطعة التجربة أثناء تصميم التجربة (Experimental design) لقطعة متاخمة سبق معاملتها أو تعرضها للتلوث بنفس المركب موضع التعدي أو بمركب آخر من نفس العائلة أو العائلات التي يتبعها هذا المركب أو بمخاليط تحتوى على مركبات من نفس مجموعته حتى لا يحدث تتداخل بينهما أثناء تقدير المتبقيات وهو ما يتم ملاحظته أيضاً في حيوانات التجريب خاصة ما إذا كانت حيوانات ذات حجم كبير •

١-٣-توحيد طريقة المعاملة بالمركب موضع التقدير :

وقد يصعب تنفيذ ذلك خاصة إذا ما أشترك عدة أفراد في إجراء المعاملة أو عدة معدات في إجراء المعاملة وهو ما يؤدى لعدم تجانس طريقة المعاملة لأقصى درجة ولهذا فأثناء تصميم التجربة يراعى زيادة عدد مكررات العاملة الواحدة (Replicates) للحد من الخطأ التجريبي •

١-٤-التجهيزة المستخدمة (Formula) :

يؤدى إختلاف طبيعة التجهيزة المستخدمة في التجريب إلى إختلاف معنوي في نتائج تقييم المتبقيات لهذه التجهيزة •

فكمية الراسب الأولى (Initial deposite) وهى الكمية الساقطة أوالملوثة للسطح المعامل عقب المعاملة مباشرة أي في وقت الصفر (Zero time) تختلف بإختلاف نوعية التجهيزة المستخدمة وذلك من حيث نوع المادة الفعالة بها (Active Ingredient : AI) ونوع وكمية المادة الحاملة (Carrier material) وكذلك

المواد الأخرى المضافة بغرض تحسين فاعلية وأداء هذه التجهيزة وهى ما تسمى بالمواد المحسنة (Supplemental materials) ولهذا فغالباً ما تكون متبقيات التجهيزة التي على صورة مساحيق (powders) أقل من مثيلتها والتي بصورة مساحيق قابلة للبلل (Wettable powders) والتي بدورها تكون أقل من مثيلتها التي بصورة مستحلبات (Emulsions) •

أيضاً يجب الأخذ في الاعتبار في هذا الصدد أن لنوعية تركيبة التجهيزة المستخدمة أثرة ودورة الفعال على مكان تجمعها وتراكمها خاصة تراكمها الحيوي (Bioaccumulation) فغالباً ما تتركز متبقيات التجهيزات القابلة للذوبان في الدهون في الأنسجة الدهنية (Addipose tissues) عن الأنسجة الأخرى •

وفى نفس الوقت تختلف درجة إختراق وتخلل التجهيزة لسطح حيوي معامل تبعاً لنوعية تركيبتها أيضاً تختلف درجة إختراق وتخلل وتحول وتمثيل تجهيزه ما تبعاً لدرجة أس تركيز أيون الهيدروجين : رقم الهيدروجين (pH) •

وبالنسبة للكيماويات الزراعية خاصة مبيدات الآفات والأسمدة والمغذيات الورقية فنجد أن المواد الغير جهازية خاصة المبيدات الغير جهازية (Non systemic) تكثر متبقيات مخلفاتها بالأوراق النباتية العريضة والكبيرة الحجم خاصة الغير ملساء منها في حين توجد متبقيات مخلفات المواد الجهازية منها في أي مكان في السطح المعامل •

كذلك لتأثير المذيب أو المذيب المساعد الموجود في التجهيزة المستخدمة دورة المعنوي على سلوك المتبقيات : فالتجهيزات التي توجد بصورة مستحلب زيتي خاصة مع متبقيات المركبات الثابتة (كاللددت) تكون بطيئة التخلل ولا يظهر ثانية على الأسطح المعاملة في حين نجد أن المستحلب الكيروسيني لنفس المركب يكون سريع التخلل ولكنه في نفس الوقت سريع الظهور مرة أخرى على الأسطح (Ressiunance) •

كذلك لدرجة ثبات التجهيزة (persistence) أثرة علـــى ســلوك المركــب الفعال بها من حيث تحوله وتمثيلة وفترة بقاء متبقياتة ٠

١-٥-العوامل المحيطة :

تؤثر العوامل المحيطة على موضع ومكان وكمية متبقيــات المخلفــات خاصة العوامل الجوية في بيئة المعاملة فتؤثر الأماكن المعرضة للرياح وذلك من حيث درجة قوتها وإتجاهها وسرعتها على كميـــة المتبقيــات الموجــودة بالسطح المعامل كذلك تؤثر الأماكن المشمسة (ساطعة الشمس) والخالية من السحب والغيوم المستمرة بدرجة واضحة على مستوى المتبقيات فتسرع مـــن إنـــهيارها (Degradation) خاصـــة المـــواد ســـريعة الإنـــهيار ضوئيـــاً (Photodegradation) ويكون لهذا أثرة الواضح أيضاً على نوعيـــة المتبقيــات (الممثلات) وبناء على ما تقدم يجب عند أخذ العينة مراعاة درجة تأثرهـــا من عدمة بالإشعاع الشمسي مع الأخذ في الإعتبار تسجيل فترات الإشـــعاع / يوم أثناء التجربة ٠

١-٦-إختلاف تنوع العينات :

ويتم التغلب على إختلاف تنوع العينات بزيادة عدد مكررات كل عينـــة مأخوذة والأفضل زيادة عدد المعاملات وزيادة حجم كل معاملة وهو ما يتـــم تحديده من خلال التحليل الإحصائي المرشح استخدامه وذلك من خلال حصر العوامل الحيوية والطبيعية الداخلة في التأثير والمؤديـــة لتفــاوت وإختـــلاف العينات كذلك يفضل أجراء التجربة في أكثر من موسم (فصل) حتـــى يتـــم التغلب على التغيرات المناخية الموسمية ٠

١-٧-توزيع القطع الغير معاملة : الكونترول (Control) :

حيث يتم توزيع القطع أو الوحدات أو حيوانات التجريب الغير معاملـــــة خلال تصميم التجربة بما يضمن عزلها تماماً عن مثيلتها المعاملـــــة وتجمـــع عيناتها مباشرة قبل المعاملة ويجب أن تكون متماثلة في الصفات والظـــروف المحيطة مع مثيلتها المعاملة (نفس الظروف المتعرضة لها ونفـــس العمـــر والوزن والحجم والجنس ٠٠٠٠٠٠٠) أي هناك تماثل تام في جميع الظـروف المحيطة بها عدا العامل المختبر فقط ٠

٢-إعتبارات تراعى عند أخذ العينات البيئية والبيولوجية للتحليل الدقيق للمتبقيات :

هناك إعتبارات هامة يجب أخذها في الإعتبار والعمل بها عند أخذ العينات للتحليل بهدف تقدير المتبقيات بها سواء أكانت هذه العينات عينات هواء لدراسة تقيم مستوى الملوثات والسموم البيئية المختلفة به أو عينات مياه (مياه أنهار أو بحار أو بحيرات أو محيطات) أو عينات تربة أو العينات البيولوجية بمختلف أنواعها سواء أكانت سوائل (كالدم وسائل المخ والنخاع ....) أو أنسجة (كالأنسجة الدهنية خاصة) .

ومن الأهمية بمكان في هذا الصدد أخذ النقاط التالية في الإعتبار حين أخذ العينة :

٢-١-حجم العينة (Sample size) :

حيث يأخذ حجم مناسب من العينة عشوائياً ممثلاً للوسط المأخوذة منه وذلك بغرض تلاشى التباين (variance) الموجود أصلاً بها أو الحد منه لأقصى درجة كما تساعد أيضاً عمليات التحليل الإحصائي من خلال تحديدها للحد الأمثل للعينة على تعويض هذا التباين وينصح بأن يكون حجم العينة عشرة أمثال الحجم اللازم لعملية التحليل ويتوقف ذلك على حساسية الطريقة المستخدمة في التحليل والجهاز المستخدم في القياس أي أن لكل عينة من العينات فرصة متساوية للإختيار والتطابق مع الوسط المأخوذة منه .

ويجب أخذ العينات عشوائياً لتمثل المجموع المأخوذة منه وبالتالي تكون الإختلافات من عينة لأخرى غير معنوية (insignificant) داخل نفس المعاملة ويلاحظ أن العامل الاقتصادي يتحكم في حجم ومكررات العينة بما يتفق وتكاليف البحث وطبيعته .

ويقوم بأخذ حجم العينة شخص مدرب لذلك لضمان الدقة والعشوائية وعدم التحيز آخذاً في إعتباره دائماً الهدف الذي من أجله أخذت العينة .

٢-٢-مكررات العينة (Sample replicates) :

حيث تكرر العينة ثلاث مكررات وكل مكرر تؤخذ منه ثـــلاث عينـــات فيصبح في النهاية موجود تسعة عينات تقسم كل عينـــــة لعينتيـــن فرعيتيـــن تستخلصا ثم يؤخذ من كلاهما حجمين مناسبين للقياس ٠

وعموماً يتوقف عدد المكررات على طبيعية طريقـــة التحليـــل والناحيـــة الاقتصادية كما يراعى عامل الزمن لتلاشى الإختلافات الناشئة عـــن معـــدل سرعة إختراق المتبقيات والتي تزداد بمرور الوقت وطبيعة المبيـــد والمـــادة الفعالة به ٠

كذلك يراعى العامل النفسي (التحيز) فقد يميل أحـــد اليـــاحثين لجمـــع العينات (كالأوراق النباتية) الكبيرة بينما آخر يميل لجمع الأوراق الصغـــيرة مما يؤثر على تفاوت نتائج التجربة ٠

وعموماً تعدد العينات يتوقف على الأسئلة التي يطرحها المحلل لتجيـــب عليها نتيجة التحليل ٠

٢-٣-١-المتبقيات الموجودة عند الجمع (Harvest residues) :

وهى كمية المتخلفات الموجودة عند ميعاد جمع المحصول (الحصاد)٠

٢-٣-٢-المتبقيات الموجودة بعد الجمع (Post harvest residues) :

وهى كمية المتخلفات الموجودة بعد جمع المحصول وقبل إستهلاكه٠

٢-٣-٣-المتبقيات الموجودة عند الإستهلاك (Terminal residues) :

وهى كمية المتخلفات الموجودة عند إستهلاك المحصول خاصة إذا ما كان المحصول للإستهلاك الآدمي أو الإستهلاك الحيواني ٠

٢-٣-٤-مخلفات سطحية (External residues) :

وهى كمية المتخلفات الموجودة بالطبقة الســـطحية والملتصقـــة بالســـطح المعامل سواء أكانت الطبقة السطحية الشمعية للكيوتيكل النباتى مثل متبقيـــات السموم الغير عضوية أو مخاليطها غير القابلة للذوبان في الشموع ٠

٢-٣-٥-مخلفات كيوتيكيولية (Cuticular residues) :
وهى كمية التخلفات بالطبقة الشمعية للكيوتيكل أو بأجزاء النباتية الأخرى

٢-٣-٦-مخلفات تحت كيوتيكيولية (Sub - Cuticular residues) :
وهى كمية المخلفات المتخللة تحت طبقة الكيوتيل كلب التفاح و إسفنج الموالح مثل مخلفات الروتينيون والنيكوتين ومخاليط البيريثرين ومركبات الداي نيترو والددت وسادس كلوريد الهكسان الحلقي والسموم الفوسفورية العضوية (غير متأنية) حيث تتخلل بسرعة متوقفة على طبيعة وتركيب سمك طبقتي الكيوتيكل وتحت الكيوتيكل وتركيب ووضع الثغور .

٢-٤-العامل النفسي في الإختيار :
حيث يعد الفشل في إختيار العينات العشوائية من أهم الأخطاء التي يقع فيها الباحث ويرجع ذلك للعامل النفسي الغير شعوري للقائم بالعمل في إختيار أنواع من الثمار أو الأوراق أو الحجم المعين دون الحجم أو الشكل الأخر وللحد من تأثير هذا العامل يفضل جمع العينات بعدد من الأفراد .

٢-٥-الجودة (Quality control) للبت في ما إذا كان يمكن أن تطول هذه الفترة أم لا :
فعلي سبيل المثال عند أخذ عينة ماء من مجرى مائى ما لمعرفة مدى التلوث بأملاح أحماض الكلورفينوكسي والهيدروكربونات العضوية المحتوية على الفسفور وهنا يتم جمع العينات المختلفة على فترات مختلفة مع نقلها للمعمل خلال أسبوع وأن يكون المعمل على درجة كفاءة عالية لتحلل على الأقل عشرة عينات يوميا وهنا يجب أن تحلل العينات لقياس الهيدروكربونات العضوية المحتوية على فوسفور في اليوم السابع (أي تحلل خلال سبعة أيام من أخذ العينة) بعدها يتم تحليل العينات لتقدير متبقيات أملاح الكلوروفينوكسي خلال ١٤ يوم .

٢-٦-تخزين العينات (Sample storage) :
تتعرض المتبقيات بالعينة لتغيرات كيميائية وعمليات هدم مستمرة كتفاعلات الأكسدة والتحلل المائي وتكوين المشابهات خلال الفترة المنقضية

من جمعة العينة وحتى أعدادها للتحليل وهنا تتوقف ظروف التخزين على الصفات الكيميائية والطبيعية للمركب المراد تحليله ، لذا يجب حفظ العينات في أكياس أو زجاجات أو برطمانات محكمة القفل وبعيدة عن الضوء خاصة إذا ما كانت العينات حساسة للإنهيار الضوئي (Photodegradation) ويلاحظ أن المبيدات المحتوية على الفسفور تتحلل بسرعة بالحرارة خاصة في وجود الرطوبة ولذا يلزم تخزينها سريعاً في أوعية مغلقة وعلى درجة حرارة منخفضة (ظروف تجميد) لأستكمال باقي خطوات التحليل أما المركبات المحتوية على كلور والمركبات العضوية الهيدروكربونية الكلورفية فيمكن تخزينها على ٣٠ ْم وبصفة عامة تخزن العينات في ثلاجات على درجة حرارة تتراوح بين ٥ - ١٠ ْم في المدد القصيرة أما إذا طالت مدة التخزين فتكون على درجة حرارة - ١٠ ْم إلى _ ٣٠ ْم جدول رقم (١-١) ٠

أما السموم عالية التطاير (volatile) فتخزن لمدة قصيرة وعلى درجة ٥ - ١٠ ْ م ٠ أما المركبات الغير متطايرة(non-volatile) فتخزن ولمدد طويلة على درجة تتراوح بين ١٠ - ٣٠ ْم دون خوف٠

وعموماً يجب أجراء إختبارات تأكيديه (Confirmtion tests) لتقدير نسبة الفقد أثناء التخزين وبصفة عامة فإن حدود فترة التخزين تتوقف على نوعية العينة وطريقة التحليل الموصى بها تبعاً لنوعية المركب ونوعية العينة كذلك إمكانيات المعمل التجهيزية والبشرية ٠

٢-٧-عوامل متنوعة :

حيث تتأثر طريقة جمع العينات بتوع العينة وطريقة المعاملة فعلى سبيل المثال المعاملة بالطائرات تركز متبقيات المبيد المترسبة على الأسطح العلوية للأوراق أكثر من الأسطح السفلي كذلك تقل نسبتها تدريجيا كلما اتجهنا لأسفل لقاعدة النبات (Botion portions) مما يؤدى بدورة لإعطاء توزيع غير متجانس مما يؤثر في النهاية على نتائج التحليل الغير متجانسة كذلك فطرق أخذ العينات تختلف تبعاً لنوعية الجزء المأخوذة منه العينة فطرق أخذ عينات الثمار تختلف عن طرق أخذ عينات الأوراق ولاختلافهما أثرة في تفاوت النتيجة ٠ كما يراعى الإهتمام بأخذ العينات المستخدمة في الاستهلاك الآدمي أو الحيواني ٠

جدول رقم (١-١) : بعض الأمثلة لأخذ العينات ونوع وكمية الجزء المأخوذ للتحليل وكيفية تجهيزه وتخزينه اذا ما استدعى الأمر

العينة	طبيعة الجزء المحلل	المتبقيات المراد تحليلها	كيفية التجهيز	الكمية المطلوبة	التخزين	مدة الحفظ
١-	ماء شرب	م كلورونية عضوية	تؤخذ العينات مباشرة للتحليل وقد	١-٢ لتر	الثلاجة	١٤ يوم
عينات	ماء أنهار	م كلورونية عضويةغازية	يستدعي الأمر إجراء عمليات الترشيح	١-٢ لتر	الثلاجة	٧ أيام
ماء	ماء بحارومحيطات	م فسفورية عضوية	لإزالة العوالق بها وتراعي تقليب العينة	١-٢ لتر	الثلاجة	٧ أيام
	ماء صرف صحي	م كرباماتية عضوية	جيداً قبل أخذ الحجم المطلوب للتحليل	١-٢ لتر	الثلاجة	أسرع ما يمكن
	ماء أمطار	أسترات كلورفينوكسي عضوية		١-٢ لتر	الثلاجة	أسرع ما يمكن
		أسترات املاح "		١-٢ لتر	الثلاجة	أسرع ما يمكن
		أسترات ترايازين عضوية		١-٢ لتر	الثلاجة	أسرع ما يمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		١-٢ لتر	الثلاجة	أسرع ما يمكن
٢-	ستائر قماش معدة	مركبات كلورونية عضوية	تؤخذ ستائر القماش لاستخلاص المتبقيات	-ستائر م٢	التجميد	٦٠ يوم
عينات	لأخذ العينات،	مركبات كلورونية عضويةغازية	الموجودة بها بالمذيب المناسب وكذا	-١٠٠مل مذيب	التجميد	أسرع ما يمكن
الهواء	مذيب الاستخلاص	مركبات فسفورية عضوية	الحال مع مادة الادمصاص ومذيب	الاستخلاص	التجميد	٧ أيام
	بوحدة أخذالعينات	مركبات كرباماتية عضوية	الاستخلاص بوحدة أخذ عينات الهواء	ethylene glycol	التجميد	أسرع ما يمكن
	مادة إدمصاص	أسترات كلورفينوكسي عضوية		مادة الادمصاص	التجميد	أسرع ما يمكن
	بأعمدة أخذالعينات	أسترات املاح "		بالعمود	التجميد	٦٠ يوم
		أسترات ترايازين عضوية		chromosorb 101	التجميد	أسرع ما يمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية			التجميد	أسرع ما يمكن
٣-	أ-تربه سطحية	مركبات كلورونية عضوية	تؤخذ التربة السطحية وتزال بقايا المواد	١-٢ كجم	الثلاجة	٦٠ يوم
عينات	ب-تربة تحت	مركبات كلورونية عضويةغازية	العضوية ماأمكن لعمل العينة الممثلة	١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
تربة	سطحية	مركبات فسفورية عضوية	أما في حالة التربة تحت السطح فتنخل	١-٢ كجم	الثلاجة	٧ أيام
		مركبات كرباماتية عضوية	لإزالة الحصى والمواد الغريبة	١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح "		١-٢ كجم	الثلاجة	٦٠ يوم
		أسترات ترايازين عضوية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
٤-		مركبات كلورونية عضوية	تؤخذ عينة التربة الرسوبية (الوحل)	١-٢ كجم	الثلاجة	٦٠ يوم
عينات		مركبات كلورونية عضويةغازية	المتحصل عليها من قاع النهر وتخلط	١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
تربه		مركبات فسفورية عضوية	جيداً لتجهيز العينة المركبة للتحليل	١-٢ كجم	الثلاجة	٧ أيام
رسوبية		مركبات كرباماتية عضوية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح "		١-٢ كجم	الثلاجة	٦٠ يوم
		أسترات ترايازين عضوية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن

تابع جدول رقم (١-١)

٥- عينات أسماك	أسماك صغيرة أسماك كبيرة	مركبات كلورونية عضوية مركبات كلورونية عضويةغازية مركبات فسفورية عضوية مركبات كرباماتية عضوية أسترات كلورفينوكسي عضوية أسترات أملاح " أسترات ترايازين عضوية أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية	تجهز الأسماك المملحة بعد إزالة الملح منها. تجهز الأسماك المدخنة والجمبري والصدفية والمطبوخة والمجمدة بتقطيعها ككل. تجهز الأسماك المعلبة أو المحفوظة بالزيت بإزالة القشور والزيل والعظام ويؤخذ مخلوط متجانس بعد تقطيعها .أماالمحاريات فيتم فحص خليط متجانس من اللحم والسائل بعد إزالة الأصداف . أما أسماك الصلصة فيتم مزجها وتؤخذعينة متجانسة الجمبري والقشريات المملحة فتعامل كماهي	٢ كجم أو ٤ علب ٢ كجم أو ٤ علب ٢ كجم أو ٤ علب ٢ كجم أو ٤ علب ٢ كجم أو ٤ علب ٢ كجم أو ٤ علب ٢ كجم أو ٤ علب ٢ كجم أو ٤ علب	الثلاجة الثلاجة الثلاجة الثلاجة الثلاجة الثلاجة الثلاجة الثلاجة	٦٠ يوم أسرع مايمكن ٧ يوم أسرع مايمكن أسرع مايمكن ٦٠ يوم أسرع مايمكن أسرع مايمكن
٦- عينات أنسجة حيوانية	اللحوم والنسيج العضلي ومايلتصق من دهون: كاللحوم الحمراء واللحوم الدهنية ولحم البقر والجاموس والغنم والماعز والإبل	مركبات كلورونية عضوية مركبات كلورونية عضويةغازية مركبات فسفورية عضوية مركبات كرباماتية عضوية أسترات كلورفينوكسي عضوية أسترات أملاح " أسترات ترايازين عضوية أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية مركبات فوسفات الألكيل مركبات ألفا نافثول	وهنا يجهز كل المنتج السابق أما في حالة المركبات القابلة للزوبان في الدهون والتراكم فيها فيحلل الجزء الدهني ويجب إستبعاد العظم من الجزء المراد تحليله	٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم	التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد	٦٠ يوم أسرع مايمكن ٧ يوم أسرع مايمكن أسرع مايمكن ٦٠ يوم أسرع مايمكن أسرع مايمكن ٩يوم ٣٠ يوم
	أعضاء تؤكل كالكبد والكلى واللسان والقلب	مركبات كلورونية عضوية مركبات كلورونية عضويةغازية مركبات فسفورية عضوية مركبات كرباماتية عضوية أسترات كلورفينوكسي عضوية أسترات أملاح " أسترات ترايازين عضوية أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية مركبات فوسفات الألكيل مركبات ألفا نافثول	تجهز ككل ثم تقطع أو تفرم أو تمزج جيداً كما يتراءي للمحلل .	٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم ٢كجم	التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد التجميد	٦٠ يوم أسرع مايمكن ٧ يوم أسرع مايمكن أسرع مايمكن ٦٠ يوم أسرع مايمكن أسرع مايمكن ٩يوم ٣٠ يوم

تابع جدول رقم (١-١) :

	لحوم بيضاء راقية وتشمل الأنسجة العضلية بما فيها من دهون ملتصقة بها	مركبات كلورونية عضوية	وتجهز ككل أو تفصل الدهون بمفردها في حالة البحث عن بقايا المركبات الهيدروكربونية العضوية الكلورونية	٢كجم	التجميد	٦٠ يوم
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٢كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٢كجم	التجميد	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٢كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٢كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح "		٢كجم	التجميد	٦٠ يوم
		أسترات ترايأزين عضوية		٢كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٢كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		مركبات فوسفات الألكيل		٢كجم	التجميد	٩يوم
		مركبات ألفا نافثول		٢كجم	التجميد	٣٠ يوم
	منتجات الألبان ودهونها وتشمل الجبن بألواهه والزبادي والزبدة والقشدة	مركبات كلورونية عضوية	وهنا تؤخذ العينة ككل سواء الألبان والقشدة أو الزبدة أما بالنسبة لأنواع الجبن المغلفة فيزال طبقة الشمع الخارجية الواقية .	١ كجم	التجميد	٦٠ يوم
		مركبات كلورونية عضويةغازية		١ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		١ كجم	التجميد	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		١ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		١ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح "		١ كجم	التجميد	٦٠ يوم
		أسترات ترايأزين عضوية		١ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		١ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		مركبات فوسفات الألكيل		١ كجم	التجميد	٩يوم
		مركبات ألفا نافثول		١ كجم	التجميد	٣٠ يوم
	البيض	مركبات كلورونية عضوية	تؤخذ البيضة ككل بعد إزالة القشرة وقد يفضل البياض أو الصفار للتحليل أو كلاهما	١٥ بيضة	التجميد	٦٠ يوم
		مركبات كلورونية عضويةغازية		١٥ بيضة	التجميد	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		١٥ بيضة	التجميد	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		١٥ بيضة	التجميد	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		١٥ بيضة	التجميد	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح "		١٥ بيضة	التجميد	٦٠ يوم
		أسترات ترايأزين عضوية		١٥ بيضة	التجميد	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		١٥ بيضة	التجميد	أسرع مايمكن
		مركبات فوسفات الألكيل		١٥ بيضة	التجميد	٩يوم
		مركبات ألفا نافثول		١٥ بيضة	التجميد	٣٠ يوم

تابع جدول رقم (١-١) :

٧- عينات زراعية ٧-١ خضر	أجزاء ورقية كأوراق الخس البنجروالكرنب والبروكلى والسبانخ والكرفس والشاي والشيح والهندباء	مركبات كلورونية عضوية	وتجهيز بإزالة الأوراق الناشفة والذابلة والمتقطعة والمعصرية وتخزن بالثلاجة على الدرجة المدة المثلى مع ملاحظة أن العينات الغضة تحفظ بالتجميد وتطول فترة التخزين للفترة الموضحة بين الأقواس	٢ كجم	التجميد	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٢ كجم	التجميد	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات كلورفيلوكسي عضوية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات أملاح " "		٢ كجم	التجميد	١٤ يوم (٣٠)
		استرات ترايازين عضوية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
	ب-أجزاء درنية وجذرية كالفجل واللفت والجذر والبنجر والبطاطا والبطاطس والشلجم	مركبات كلورونية عضوية	حيث تجهز بإزالة القمم والشعيرات الجذرية التي عليها مع إزالة التربة العالقة بها أو الملتصقة عن طريق المسح بفرشاة ،	٢ كجم	التجميد	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٢ كجم	التجميد	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات كلورفيلوكسي عضوية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات أملاح " "		٢ كجم	التجميد	١٤ يوم (٣٠)
		استرات ترايازين عضوية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
	ج-أجزاء بصلية كالبصل والكرات و الثوم والكرفس	مركبات كلورونية عضوية	وتعد بإزالة الأتربة العالقة بها بفرشاة نظيفة مع إزالة الجذور الرقيقة منها والأوراق الخارجية الجافة وبالنسبة للكرات والبصل فيجرى التحليل على السلعة كلها ،	٢ كجم	التجميد	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٢ كجم	التجميد	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات كلورفيلوكسي عضوية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات أملاح " "		٢ كجم	التجميد	١٤ يوم (٣٠)
		استرات ترايازين عضوية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
	د-البقوليات كالفول والفاصوليا واللوبيا والبسلة...	مركبات كلورونية عضوية	وهنا تقشر قرونها وتؤخذ الحبوب ويتم إستبعاد الحبوب التالفة أو المصابة وقد يتم التحليل على السلعة كلها كما في حالة الفاصوليا الخضراء،	٢ كجم	التجميد	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٢كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٢كجم	التجميد	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٢كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات كلورفيلوكسي عضوية		٢كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات أملاح " "		٢كجم	التجميد	١٤ يوم (٣٠)
		استرات ترايازين عضوية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن
		استرات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٢ كجم	التجميد	أسرع مايمكن

تابع جدول رقم (١-١) :

	هـ- خضراوات ثمرية تؤكل قشرتها كالفلفل والقرع والطماطم	مركبات كلورونية عضوية	وهنا تزال منها الساق وتؤخذ للتحليل .	١-٢كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		١-٢كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		١-٢كجم	الثلاجة	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		١-٢كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		١-٢كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح "		١-٢كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		١-٢كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		١-٢كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
	و- خضراوات ثمرية لا تؤكل قشرتها كالشمام والقرع الشتوي والكنتالوب	مركبات كلورونية عضوية	وتجهز بحيث يزال منها القشرة والساق	٣-٨ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٣-٨ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٣-٨ كجم	الثلاجة	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٣-٨ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٣-٨ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح "		٣-٨ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٣-٨ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٣-٨ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
٧-٢- الفاكهة	أ-ثمار الموالح كالبرتقال البلدي واليوسفي وأبو صرة وجريب فروت وليمون أضاليا ...	مركبات كلورونية عضوية	تحلل كل الثمرة	٤-١٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٤-١٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٤-١٢ كجم	الثلاجة	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٤-١٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٤-١٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح "		٤-١٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٤-١٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٤-١٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
	ب-ثمار تفاحية يؤكل قلبها كالتفاح والكمثري والسفرجل	مركبات كلورونية عضوية	تجهز الثمرة بعد نزع ساق الثمرة منها	٢كجم (٢٠ثمرة)	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٢كجم (٢٠ثمرة)	الثلاجة	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٢كجم (٢٠ثمرة)	الثلاجة	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٢كجم (٢٠ثمرة)	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٢كجم (٢٠ثمرة)	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح "		٢كجم (٣٠ثمرة)	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٢كجم (٢٠ثمرة)	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٢كجم (٢٠ثمرة)	الثلاجة	أسرع مايمكن

تابع جدول رقم (١-١) :

	ج-ثمار حجرية بها نواه صلبة لا تؤكل كالجوافة والمشمش والكريزوالبرقوق	مركبات كلورونية عضوية	تجهز كل الثمرة بعد إزالة النواة والساق العنقي	٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح " "		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
	د-ثمار صغيرة كالتوت بأنواعه (الأسود والبرى والأزرق ولوغال) والعنب والزبيب والفراولة	مركبات كلورونية عضوية	وتجهز بإزالة عنق الثمرة والكأس (الأوراق-الكاسية)وبالنسبة للزبيب تكون الثمرة مع الساق ٠	٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح " "		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
	هـ-ثمار متنوعة وذات قشرة تؤكل التين البرشومى والبلح والزيتون والجوافة	مركبات كلورونية عضوية	وتجهز بإزالة الساق والنواة(وفي حالة البلح والزيتون)أما في حالة التين والجوافة تكون بإزالة الساق ٠	٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح " "		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
	و-ثمار متنوعة ذات قشرة لا تؤكل كالموز والمانجو والكيوى والبا باز والأناناس والأفوكاتو	مركبات كلورونية عضوية	تجهز بإزالة القشرة للموز والباباز والمانجو وإزالة النواة للمانجو والأفوكاتو	٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح " "		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن

تابع جدول رقم (١-١) :

٧-٣- الحبوب	القمح والشعير والذرة	مركبات كلورونية عضوية	تجهز بإزالة قشرة القمح والشعير أو	٢كجم(٦-١٢كوز)	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
	والسورجم والشوفان	مركبات كلورونية عضويةغازية	تترك لو كانت تستخدم في العلف	٢كجم(٦-١٢كوز)	الثلاجة	أسرع مايمكن
	والأرز والذرة الحلو	مركبات فسفورية عضوية	الحيوالي كذلك يزال القشور وأغلفة وقوا	٢كجم(٦-١٢كوز)	الثلاجة	٧ يوم
	والجاودار	مركبات كرباماتية عضوية	لح الذرة والذرة الحلو	٢كجم(٦-١٢كوز)	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٢كجم(٦-١٢كوز)	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح " "		٢كجم(٦-١٢كوز)	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٢كجم(٦-١٢كوز)	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٢كجم(٦-١٢كوز)	الثلاجة	أسرع مايمكن
٧-٤- السوق	ذرة العلف وذرة	مركبات كلورونية عضوية	تجهيز بتقطيعها وتأخذ ككل .	٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
	السورجم للعلف	مركبات كلورونية عضويةغازية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
	وسيقان القمح	مركبات فسفورية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	٧ يوم
	والشعير والشوفان	مركبات كرباماتية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح " "		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
٧-٥- بذور زيتية	الفول السوداني	مركبات كلورونية عضوية	وتجهز بعد إزالة القشرة والقرون الفارغة	٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
	والقطن والكتان	مركبات كلورونية عضويةغازية	،في حالة الفول السوداني أما في القطن	٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
	وعباد الشمس واللفت	مركبات فسفورية عضوية	فيتم حلج القطن ولضج البذرة نظيفة .	٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	٧ يوم
	والقرطم	مركبات كرباماتية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح " "		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
٧-٦- بقوليات علف	علف الفول وفول	مركبات كلورونية عضوية	يأخذ العينة كلها للتحليل .	١-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
	الصويا والفول	مركبات كلورونية عضويةغازية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
	السوداني والبرسيم	مركبات فسفورية عضوية		١-٢ كجم	الثلاجة	٧ يوم
	والبازلاء .	مركبات كرباماتية عضوية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح " "		١-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		١-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن

تابع جدول رقم (١-١) :

٧-٧- ثمار أشجار النقل	اللوز والبندق وعين الجمل والبقان وأبو فروة والجوز •	مركبات كلورونية عضوية	تجهز بإزالة القشرة الخارجية الصلبة•	٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح " "		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٠,٥-٢ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
٧-٨- بذور نباتات إستوائية	الكاكاو - التين •	مركبات كلورونية عضوية	تجهز بأخذ البذرة كلها وتطحن أو تجرش لأعداد الوزن المناسب •	٠,٥-١ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح " "		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
٧-٩ - أعشاب مكسبة للطعم و التوابل	سوق وجذور وأوراق نباتات عشبية مكسبة للطعم وكذلك تؤخذ جذور وثمار النباتات المستخدمة كتوابل •	مركبات كلورونية عضوية	يؤخذ الجزء اللازم للتحليل ويهمل باقي النبات •	٠,٥-١ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		مركبات فسفورية عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	٧ يوم
		مركبات كرباماتية عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات أملاح " "		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		أسترات ترايازين عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
٧-١٠ أعشاب تستخدم كمشروبات	الشاي والنعناع و الشيح البابونى	مركبات كلورونية عضوية	يأخذ الأجزاء الصالحة للاستهلاك الادمي سواء كانت أوراق أو أزهار للتحليل •	٠,٥-١ كجم	الثلاجة	
		مركبات كلورونية عضويةغازية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	
		مركبات فسفورية عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)
		مركبات كرباماتية عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات كلورفينوكسي عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	٧ يوم
		أسترات أملاح "		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات ترايازين عضوية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	أسرع مايمكن
		أسترات مشتقات اليوريا الإستبدالية		٠,٥-١ كجم	الثلاجة	١٤ يوم (٣٠)

٢-٨-مسك الدفاتر :

وتبدأ بعملية جمع العينات فتوضع أكثر من بطاقة(Label) من الخـــــارج وأخرى في الداخل وتربط بسلك لملازمة العينة في جميع خطـــوات تحليلـــها وذلك لتداخل أيدى كثيرة في العمل ،

والمحلل هو المسئول من وقت إستلام العينـــة وحتـــى نهايـــة تحليلـــها وحصوله على النتائج . وقد تحتوى البطاقة على أرقام كودية للعينات فتظـــل مرافقة للعينات حتى تحليلها ويوضح عليها تاريخ إســـتلام العينـــة ورقمـــها المعملي ورقمها الكودي وطريقة التحليل والمادة الفعالة والنسبة المئوية للمواد الغريبة وقيمة التقدير حيث يقوم مدير المعمل بقبول إستلام وتسجيل العينـــات والتأكد من وجود التقرير المرفق بالعينة والمتضمن : مصدرها و مكوناتـــها و جهة الورود وحجمها والتحليل المطلوب حيث يقوم بعد ذلك بفحص العينـــة ومدى مطابقتها للتقرير المرفق حيث يعطى لها الرقم الكودي وذلك في دفـــتر الوارد ، جدول رقم (١-٢)،

جدول رقم (١ -٢) : جدول يمثل إنموذج لدفتر الوارد

مسلسل	تـــاريخ الاستلام	جهـــة الورود	رقـــم كودي	مكونـــات العينة	مصدر	التحليـــل المطلوب	حجـــم العينة	الجهـــة المسئولة عن التحليل	القـــائم بالفحص	ملاحظات

ومما سبق يتضمن أن :

١ - جمعت العينات بصورة منتظمة من أماكن تواجدها وأرســـلت لمعـــامل التحليل المعروفة ،

٢ - يراعى عدم الإسراف في كميات العينات وعددها حيث يجب أن تكفـــــى فقط الغرض المطلوب ويجب أن تكون العينة مصحوبة بتقرير من المشـــرفين يتضمن (مصدرها - حجمها - نوع التحليل المطلوب ٠٠٠٠٠٠٠) وبعد أخذ الرقم الكودي الخاص بالمعمل (lab – number) والتأكد من أحكام غلقها وعـــدم حدوث أي ضرر لها (كتغير لونها أو تميئها) ،

٣ - يقوم المعمل بوضع هذا الرقم في دفتر الوارد بالمعمل مع كل البيانـــــات المتاحة السابقة والتي قد يحتاج إليها المحلل مستقبلاً والتي تفيده بعد التحليـــل في كتابة التقرير الذي سيقدم للجهة المعنية ،

٤ - بعد الإنتهاء من التحليل وكتابة التقرير (Reporting Analytical Results] RAR)] تحفظ باقي العينات المحللة لفترة لاحقة لإحتمال الحاجة إليها للتأكد من نتيجة ما أو فقد تقرير النتائج فيعاد التحليل مرة أخرى ولذا يراعى أيضاً أن ترفق النتائج في دفتر التقرير ،جدول رقم (١ - ٣) :

جدول رقم (١-٣) : إنموذج لدفتر التقرير

مسلسل	تاريخ الاستلام	رقم العينة الكودي	رقم العينة بالمعمل	رقم المحلل	طرق التحليل	النتائج	ملاحظات

٣ -إعتبارات تراعى عند تجهيز العينات (Sample processing) للتحليل الدقيق للمتبقيات :

يراعى عند تجهيز العينات عقب أخذها بالبروتوكولات السابقة عدة نقاط هامة إلا وهى :

٣ - ١-تختلف عمليات تجهيز العينة تبعاً لنوعية العينة نفسها :

٣-١-١-عينات بيئية : كعينات المياه بأنواعها (مياه عذبة كالأنهار والبحيرات ومياه مالحة كمياه البحار والبحيرات والمحيطات) .

٣-١-٢-عينات التربة مختلفة وبأعماقها المختلفة موضع الدراسة .

٣-١-٣-عينات نباتية مختلفة (كالمحاصيل والخضر والفاكهة) سواء أكانت سوق أو أوراق أو ثمار أو بذور ......

٣-١-٤-عينات هواء سواء أكانت خارج أو داخل الأبواب (Out & Indoors)

٣-١-٥-عينات بيولوجية : من أجسام حيوانات التجريب أو الجسم البشرى.

٣-١-٦-عينات المواد المصنعة كاللحوم ومنتجات الألبان .

٣ - ٢-تنقسم العينة المأخوذة لأربعة عينات فرعية (Sub-sampling) حيث يتم خلط كل عينتين فرعيتين متقابلتين معاً ثم تقسم بعد ذلك مرة أخرى بنفس الطريقة وتكرر عدة مرات حتى تحصل علي عينة متجانسة متماثلة ومماثلة

للعينة الأم ثم تؤخذ وزنة معينه منها لأجراء عملية التحليل الدقيق للمتبقيات وغالبا ما يؤخذ لكل عينة ثلاثة مكررات علي الأقل.

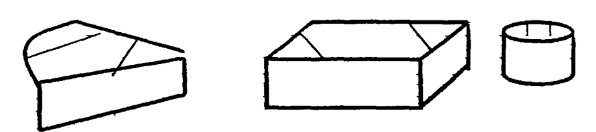
٣-٣-تجهز عينات الحبوب والبذور الغذائية مثلا بطحنها أو جرشها ثم تؤخذ وزنة منها للتحليل وبثلاث مكررات علي الأقل.

٣-٤-في حين تجهز عينات الخضروات والفواكه بأخذ الجزء المأكول منها ويقطع (maceration) لقطع صغيرة لتسهيل عملية الاستخلاص خاصة مع الخضر والفواكه ذات الثمار كبيرة الحجم .

٣-٥-أما بالنسبة للعينات السائلة (كالمياه والسوائل المختلفة والمشروبات) فلا تحتاج لتجهيز لتجانسها حيث تؤخذ العينات من المنتج مباشرة وعشوائيا للحصول علي العينة المركبة (Composite sample) ومنها يحصل علي العينات الفرعية الممثلة لها سواء بالحجم أو بالوزن وبالعدد المطلوب لكل معاملة وبالمكرر المرغوب لكل عينة.

٣-٦-أما بالنسبة لعينات الأسماك فتجهز بإزالة قشورها وزعانفها والرأس والعظام والذيل ويتم طحنها بعد تجميدها .

٣-٧-بالنسبة لتحليل العبوات الخاصة بالسمن والزبده والجبنة خاصة المطبوخة منها فلا يكون هناك داع لإسالتها مرة أخري ولكن تقسم العبوة تبعاً لشكلها العام حيث تؤخذ أجزاء متفرقة منها كما بالشكل التالي رقم (١-٣) :



شكل رقم (١-٣) : كيفية تقسيم العبوات الخاصة تبعا لشكلها

الباب الثاني

أسس عمليات الاستخلاص
لمتبقيات السموم
في العينات البيئية والبيولوجية

تتوقف التطبيقات الناجحة لتحليل متبقيات المبيدات على توافر طريقة التحليل المناسبة والموثوق في نتائجها وأيضاً على خبرة القائم بالتحليل حيث أن هناك العديد من المراجع التي توضح طرق التحليل المناسبة من خلال تناولها لعمليات الاستخلاص والتنقية وقد يحتاج الأمر في بعض الأحوال إلى إجراء بعض التعديلات أو التطويرات (modifications) لهذه الطرق على أن يؤخذ في الإعتبار نتائج معدل الإسترجاع (Rate of recovery data) المتحصل عليها بعد هذه التطويرات وقبل بداية التحليل للعينة موضع البحث فبعد الإنتهاء من أخذ العينة العشوائية والممثلة للمجوع بدقة كما سبق يتم نقلها للمعمل لإجراء التحليل مباشرة أو بعد تخزينها تبعاً لنوعيتها كما سبق.

ثم تبدأ بعد ذلك أولى خطوات ما قبل التحليل (Preanalysis) مباشرة وهي عملية الاستخلاص (Extraction) لمتبقيات المركب سواء أكان بصورته الأصلية فقط أو لمتبقيات المركب وممثلاته وهذا ما يجب أخذه في الإعتبار عند إختيار طريقة الاستخلاص المناسبة والمذيبات المستخدمة فأي خلل في الإختبار هنا يؤدى لنقص كفاءة عملية الاستخلاص وهو ما يتم التوصل إليه من إجراء تجربة أو دراسة مبدئية على تقييم معدل الاسترجاع (Rate of recovery) لبعض العينات المقواة (Spiked samples) بالمعمل وذلك عن طريق أضافه كمية معلومة من المركب النقي إلى عينة غير معاملة بالمركب محل الدراسة (Check samples) ثم تطبق خطوات عملية الإستخلاص على العينة ثم عملية أو عمليات التنقية ثم يتم التقدير بعد ذلك وتقارن النتيجة المتحصل عليها من التقدير بكمية المركب المضافة حيث يقدر معدل الاسترجاع كنسبة مئوية كالآتي :

معدل الاسترجاع=كمية المركب المقدرة بعد الاستخلاص/كمية المركب المضافة X ١٠٠

وهذا ما يعبر عنه بكفاءة الإستخلاص (Extraction efficiency) حيث تشير إلى الاستخلاص أو النزع الكامل لمتبقيات المركب أو نواتج تمثيله من العينات المختلفة .

ومن الجدير بالذكر أنه ليس من الضروري أن يكون الإسترجاع كاملاً للمتبقيات وذلك لإحتمال الفقد بتأثير بعض العوامل الحيوية أو البيئية المختلفة مع الزمن .

عمليات الإستخلاص (Extraction process) :

تعد عملية أو عمليات الإستخلاص هـــي عمليـــة اســتخلاص متــوازن (Equilibrium extraction) بغرض نقل متبقيات السموم (سواء بحالها الأصلية أو تحولاتها وممثلاتها) من العينات البيئية والبيولوجية السابق تجـــهيزها إلـــى مذيب أو نظام مذيبات مناسب (Solvent system) من خلال مســـاندة وســـائل ميكانيكية أو طبيعية فعملية الاستخلاص بمثابة عملية نزع وتركـــيز وتنقيـــة جزئية (Partial clean-up) لفصل متبقيات المركب عن باقي أجزاء الوســـط أو السطح العامل ٠

وعملية الإستخلاص ليست بالضرورة عملية كمية (Quantitative process) ولكن المهم يجب وأن تعطى نفس النتائج عند إعادة إجرائـــها مـــرة أخـــرى (Reproducibility) وألا يزيد الفرق بين نتائجكل مـــرة عـــن ± ٥ % حيـــث تختلف تبعا للتركيب الكيميائي للمادة السامة أو الملوث المراد تقدير متبقياتـــها نوعياً وكمياً أو كلاهما وتركيزة كذلك تبعاً لنوعية تركيب المذيب المســتخلص به والعينة موضع الإستخلاص والإمكانيات والإستعدادات المتاحـــة معمليـــاً بالمعمل والناحية الاقتصادية في التقييم وعامل الآمان في التحليل ٠

وتتوقف كفاءة عملية الاستخلاص (Extraction efficiency) على :

١ - نوعية التركيب الكيميائي والبنائى لجزيئي المركب السام المـــراد تقديـــر متبقياته ٠

٢ - نوعية المذيب المستخدم أو نظام المذيبات وطبيعة تركيبة وقد تســـتخدم مذيبات مساعدة (Co-solvent) كالأسيتونتريل والنيتروميثان والأيزو بروبـــانول لزيادة كفاءة عملية الإستخلاص لتصبح تقريباً عملية إستخلاص كامل ويساهم مع ذلك عملية تجهيز العينة السابقة من حيث تقطيعها أو طحنها أو جرشها ثم ضربها في الخلاط مع المذيب المستخدم جيداً ٠

ويراعى أن تكون نسبة المذيب للمادة المستخلصة هـــي ٢ : ١ بـــالحجم حيث تعطى عملية إستخلاص مقبولة ما لم تنشأ صعوبـــات نتيجـــة عمليـــات الإستحلاب من المذيب ورطوبة العينة والتي يمكن التغلب عليها بزيادة نســـبة المذيب إلى العينة ٠

٣ - العينة البيئية أو البيولوجية المستخلص منها متبقيات المركب وطبيعة تركيبها : فأغلب جزئيات السموم تتوزع بين الشموع والأنسجة الدهنية ويستعرض الجدول رقم (٢-١) نسب إسترجاع بعض المركبات :

جدول رقم (٢- ١) : نسبة إسترجاع المركبات الهيدروكربونية العضوية الكلورونية والفسفورية والكرباماتية والبيفينولات من العينات الدهنية وغير دهنية :

% للاسترجاع من العينة	المركب
١٠٠ % استرجاع من العينات الدهنية	أيزودرين- بروموفوس إيثيل - فونوفوس - ليبتوفوس - مالايثون - زكتران- سلفوتب-كلوربيلات -فينكابتون
٨٠ % من العينات الدهنية وغير الدهنية :	ألدرين - بنزين هكساكلوريد (δ، α، γ)- كلورودان ، كلوبنزيد، ٢،٤-د - ددا - ددت-ديلدرين-اندوسلفان - إندرين-هيبتاكلور أبيوكسيد-ميثوكس كلور-نيتروفن-أوفكس-بنتاكلورو إيتلين-بيرثان-فوتوديلدرين-بيفينول- PCNB -كلوربيريفوس-ديازينون-EPN - ايثون-باراثيون-(اثيل - ميثيل) فوزالون -رونل-ستروبان-ت د إ-تتراديفون-تتراسول-ترايفلورالين ،
١٠٠% إسترجاع من العينات الدهنية وجزئياً من العينات الغير دهنية	بترسلفيد- دايكلوروبينيل
>٨٠% من العينات الدهنية والغير دهنية	بيولات-كلورديكون-كلوروبنزيلات-ديكلوران-ديكوفول-ديلان-ميثوكاب-فول كاب-فول بت-بوولان-٢و٤-د - فور بت
أسترجاع جزئيا من العينات الدهنية وإسترجاع ١٠٠% من العينات الغير دهنية	كاربوفيثون-٢،٤ -د -ديكاثال-هكساكلوروبنزين - ميركس-DFP-نيماسيد - ديرين-نفثالينات كلورونية
مركبات لا يمكن إسترجاعها من العينات الدهنية	أراميتان-بروبازين - ثيونازين (thionazine)
مركبات لا يمكن إسترجاعها من العينات الغير دهنية	بروباتيل- سيمازين- كابتافور- كومافوس بوميل-أزينفوس - داى كروتوفوس-داى ميثوبت-مونوكروتوفوس- ناليد- فوسمت- فوسفاميدون-ديميتون-ميفينفوس-كلورفينفوس-
مركبات تسترجع جزئياً من العينات الغير دهنية	أراميت-أترازين-أزينفوس ايثيل-كابتان- كلورونيب-داى كايثون-داى سلفاتون- فيثون - بروبازين - ميثيوتازين

ولذا غالباً ما يستخدم البتروليم إيثر أو الكلوروفورم أو الأيزوأكتان أو ربع كلوريد الكربون أو الميثل إيثر أو البنزين فقديماً كان يكتفي بالغسيل المباشر للعينة بالمذيب المناسب أي عملية نزع (Stripping) وبرغم سرعتها وسهولة إجرائها كطريقة لتقدير المتبقيات السطحية فقط (Surface residues) إلا أنها غير قادرة على إستخلاص متبقيات المركب المتخللة لأنسجته والمتحركة مع العصارة أوالسائل الدوراني كالدم أو الليمف .

أى أن عملية الاستخلاص هى فصل ونقل متبقيات المركب أو خليط المركبات المراد تقدير متبقياتها في العينة من خلال عملية أو عدة عمليات استخلاص متتابعة بمذيب أو بنظام مذيبات مناسب معتمداً في ذلك على مقدرة المذيب في نزع (Elution) أو إزاحة كل أو معظم جزئيات الملوث أو السم أى أنها عملية أختيار المذيب المناسب والذى يذيب أكبر كمية ممكنة من متبقيات المركب من العينة أو على أسوأ الفروض فصل متبقيات المركب ومعه أجزاء بسيطة من مكونات العينة وأنسجتها خاصة الأنسجة الدهنية وهو ما يتوقف بدورة على الصفات الطبيعية والكيميائية للمذيب المستخدم ، جدول رقم (٢-١) ، لذا يراعى ما يلى بالمذيب أو نظام المذيبات المستخدم :

١ - كلما كان المذيب أو نظام المذيبات المستخدم مناسب لعملية استخلاص متبقيات المركب ليس فقط من عينة واحدة بل من مجموعة مختلفة ومتنوعة من العينات كلما كان أحسن .

٢ - يجب إعادة تقطير المذيب المستخدم (Redistillation) قبل إستخدامه للتأكد من نقاوته حيث تجرى عملية التقطير في أوعية وصلاتها من الزجاج أو من التيفلون (Tephlone) وليست من الكاوتشوك أو البلاستيك وتزداد أهمية التقطير وللمذيبات خاصة المستخدمة في إستخلاص السموم الهيدروكربونية العضوية المكلورة مثل الكلوروفورم وكلوريد الميثلين ورابع كلوريد الكربون والتي يتكون منها الفوسجين السام مما يعطى نتائج مضللة عند التقييم الحيوي لمستوى السمية (Bioassay) وعمل منحنيات الموت (Mortality curves) علاوة على خطرها على القائم بالعمل .

٣ - يجب تجفيفها من الرطوبة قبل إستخدامها بأمرارها على أعمدة كروماتوجرافية (Chromatographic columns) محشوة (packed) بكبريتات صوديوم لامائية سبق تجفيفها في فرن على درجة ١١٠ °م .

٤ - غالباً ما يكون حجم المذيب المستخدم في الإستخلاص ضعف حجم العينة وهذا يختلف بإختلاف نوع العينة فقد تصل لاربعة أو لثمانية أضعاف حجم العينة لإعطاء مستخلص رائق بدرجة كافية .

٥ - عند إستخدم الأثيرات (Ethers) يجب التأكد من خلوها من البيروكسيدات (peroxides) وذلك بإضافة ١٠ مل من محلول ١٥% يودور بوتاسيوم حديث التحضير ثم ١ ملل أثير مع الرج في مخبار بغطاء محكم / دقيقة فإذا تكون لون أصفر دل ذلك على وجود البيروكسيدات وهنا يلزم إزالتها بوضع حجم من الأثير مع حجم ونصف ماء مقطر بقمع فصل وترج جيداً لغسلها وتكرر عدة مرات ثم يؤخذ طبقة الأثير ويضاف إليها ١٠٠ ملل كلوريد صوديوم مشبعة وترج بشدة ثم تترك لتكوين سطح الإنفصال ثم تؤخذ طبقة الأثير وتهمل الطبقة المائية السفلية ثم يمرر الأثير بعد تجمعيه على عمود كبريتات صوديوم لامائية لنزع أثار الرطوبة منه ثم يضاف للأثير بعد ذلك ٢ ملل كحول أيثايل لجعله أكثر ثباتاً وهنا يجب ملاحظة أن وجود نسبة ٢% كحول تزيد درجة قطبية الأثير .

٦ - في حالة تكوين مستحلب دائم مع المحتوى المائي المرتبط مع مكونات العينة والذي خلال الخلط بالخلاط (mixer) أو مع العينات المجمدة أو المحفوظة والتي يصعب كسرها بواسطته كبريتات الصوديوم اللامائية للتخلص من الماء الزائد وهنا يتم

٦-١-زيادة نسبة المذيب للمادة المستخلصة حتى ٤ - ٨سم٣ /حجم عينة خاصة مع العينات المائية

٦-٢-كسر المستحلب ميكانيكياً بإستخدام مذيب مساعد حيث تخلط العينة بحجم مماثل من مذيب مساعد ككحول الأيزوبروبانول والذي يعمل كمذيب مساعد لكسر المستحلب يذيب كلاً من المحتوى المائي المنفرد والمذيب المناسب المستخدم ثم يضاف المذيب المستخدم .

٦-٣-كسر المستحلب ميكانيكياً عن طريق الطرد المركزي للعينة وتفيد هذه الطريقة مع أحجام العينات المستخلصة الصغيرة .

٦-٤-إستخدام مواد كيميائية من شأنها تغيير قوى الجذب السطحي .

٦-٥-التحكم في فترة وقوة عملية الخلط أو الهرس .

جدول رقم (٢- ٢) :بعض المذيبات الشائعة الاستخدام في الاستخلاص وثوابتها :

المذيب	المركبات التي يستخدم معها	% ذوبان	درجة تطايره	حركة أبخرته	درجة غليانه	اشتعاله	حاسية
أسيتون	يستخدم في إستخلاص الكثير من المركبات خاصة القطبية منها ويتمص بقوة إلى Glass ware))	يذوب	متوسط	لأعلى	٥٦,٥	ملهب	ـ
أسيتو نتريل	يستخدم في استخلاص الكثير من المركبات ويمتزج مع العديد من المذيبات الأخرى بما فيها الماء ولا يمتزج مع الهيدروكربونات المشبعة يذيب بعض الأملاح العضوية وأبخرته سامة لذا يجب عدم إستنشاقها كما أنها مهيجة	يمتزج ١٦%	صعبة	لأعلى	٨١,٦	ملهب	ـ
بنزين	يستخدم في استخلاص الكثير من المركبات القطبية والغير قطبية غير قابل للامتزاج مع العديد من المذيبات الأخرى يسهل تطايره حتى في وجود الماء استنشاق أبخرته لمدة طويلة يؤدي لنقص نخاع العظام ، aplash	٠,١	سهلة	لأعلى	٨٠,١	ملهب بشدة	ـ
هكسان	يستخدم في استخلاص المركبات غير القطبية أو ضعيفة القطبية ولا يمتزج بالماء ولكنه يمتزج مع الكحولات والكلوررفورم والأثير	ـ	سريع	لأعلى	٦٠- ٧٠	ملهب	ـ
كحولات	تستخدم في استخلاص البيرينات والسكريات والأمينات والببتيدات العقيدة- الصمغيات- الليمين	تذوب	صعب	لأعلى	٦٤,٧- ٨٢,٥	ملهب	ـ
كلوروفورم	يستخدم في إستخلاص المركبات القطبية وغير القطبية ونواتج تمثيلها . وجود آثار ماء فيه يصعب تبخيره يحتوى على ١% كحول ايزبروبيل- المذيب لبقديم يحتوى على مركبات مؤكسدة قوية كالفوسجين	٠,٤	سهلة	لأسفل	٦٢	ملهب	حساس للضوء

تابع جدول رقم (٢-٢) :

داى-إيثيل ايثر	يستخدم في استخلاص العديد من المركبات ونواتج تمثيلها بوجد آثار من البيروكسيدات وجود آثار للماء بـه تصعب تبخيرة	١,٥	سهلة	لأسفل	٣٤,٥	ملهب بشدة	—
بتروليم ايثر	يستخدم مع العديد من المركبات الغير قطبية		سهلة	لأعلى	٣٠-٦٠	ملهب	—
أيثيل أسيتات	يستخدم مع العديد من المركبات خاصة الهيدروكربونية العضوية الفوسفورية	١٠ %	صعبة	لأعلى	٧٧	—	—
كلوريد الميثلين	يستخدم في استخلاص العديد من المركبات خاصة في عينات الهواء ومن الصعب تنقيته كما يصعب الاحتفاظ به نقياً سام	٢ %	سريع	لأسفل	٣٩,٨	غير ملتهب	—
داى ميثيل سلفوكسيد	يستخدم مع كثير من المركبات يصعب تبخيرة فهو يمتزج بالماء (هيجروسكوبى)	يمتزج بالماء	صعب	لأعلى	١٨٩	ملهب	ينهار عند ملامسة الهاليدات
نيتروميثان	يستخدم في استخلاص العديد من المركبات وخلطة مع القلويات يؤدى لفرقعة وسام يصعب تبخيره لذوبانه في الماء	٩,١	صعب	لأعلى	١٠١,٢	ملهب	

٧-إستخلاص المتبقيات من المكون البيئي : التربة لم يلقى تقدماً كبيراً لحدوث العديد من التغيرات الكيميائية المؤثرة على مستوى إدمصاصها خاصة مع المحتوى الرطوبى العالي بالتربة والذي يؤثر على قدرتها الإدمصاصية لذا فإستخدام مذيب قطبي عالي كالأسيتون ١٠% يعطى نتائج جيدة بدون حدوث تداخلات ٠

٨-إستخلاص المتبقيات من عينات الأنسجة الحيوانية يتوقف على الصفات الطبيعية والكيميائية للمركب وعموماً يجب طحنها أولاً :

٨-١-فالمركبات الثانية في الوسط القلوي يتم فصلها من خلال عملية تصبن مباشرة ثم الإستخلاص بمذيب هيدروكربونى مع كبريتات صوديوم لامائية

٨-٢-المركبات الغير ثابتة في الوسط القلوي يتم إستخلاصها في البداية بمذيب مناسب ثم تفصل بعد ذلك بالتحلل في وسط حمضي ٠

٩-غالباً ما يؤدى إستخدام الماء في الإستخلاص لخطأ في الحساب الكمي حيث يؤدى التخفيف الناتج من المحتوى المائي للعينة نفسها بالإضافة إلى كمية الماء المستخدمة إلي ظهور أخطاء كمية عند حساب تركيز المتبقيات المقدرة ولهذا يستخدم الكلوروفورم مع العينات أثناء طحنها .

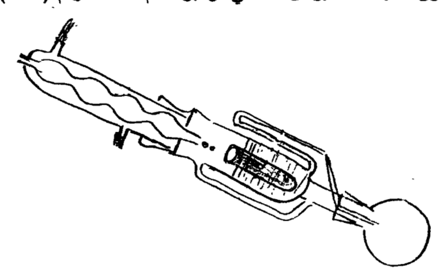
طرق الاستخلاص (Extraction methods) :

١-الاستخلاص بالطريقة الجافة (Dry technique) :

وتستخدم مع العينات المحتوية على مركبات سامة ومتبقياتها غير ثابتة بالوسط المائي (hydrolysable) وهنا يتم تجفيف العينة ثم طحنها وتؤخذ منها وزنه معلومة للاستخلاص بإحدى الطرق التالية :

١-١-باستخدام وحدة سوكسلت (Soxhlet) :

وتبنى نظرية عملية الاستخلاص علي الإستخلاصالمتعاقب (Exhausting : Successive extract) للعينة حيث يحدث إستخلاص مستمر (Exhausting) في المذيب المناسب للمركب المراد إستخلاصه مع مراعاة عدد الدورات ومعدلها بالنسبة للزمن فإذا كانت ذات معدل سريع فهذا يعنى إستخلاص غير تام وإذا كانت ذات معدل بطيء فهذا يعنى إرتفاع درجة حرارة المكثف مما يؤدى لخروج بعض أبخرة المذيب المتطاير ومعها متبقيات السم دون تكثيف مما يؤدى لفقد في تركيز السم ، شكل رقم (٢-١).



شكل رقم (٢-١) : وحدة سوكسلت

١-٢-النقع (Soaking) :

حيث توضع وزنه معلومة من العينة مع ضعف حجمها مذيبا مناسب وتترك فترة زمنية تتفاوت لما يتراى للمحلل ونوع المركب المستخلص والعينة المستخلص منها وغالباً ما تكون ١٢-٢٤ ساعة . على أن يتم رجها من وقت لآخر حتى يحدث تلامس تام بين المذيب وجزئيات العينة ويحدث التوازن (Equilibrate) ثم ترشح ويؤخذ الراشح كله أو جزء منه لإستكمال باقي العمليات وهنا يجب تعديل التركيز في هذا الحجم نسبة إلى الحجم الكلي المترشح من العينة معلومة الوزن .

وقد يستخدم النقع مع الهز (sheaking) أو الطردى المركزي بغرض زيادة كفاءة الاستخلاص .

ويلاحظ أنه مع زيادة الوقت المستغرق في عملية النقع ربما يعرض العينة للضوء لذا يجب وضعها في زجاجات بنية محكمة القفل حيث قد يكون المركب السام المستخلص غير ثابت ضوئيا (Photodecmposition)

٢-الإستخلاص بالطريقة المبتلة (Wet technique) :

وتستخدم مع العينات البيئية أو البيولوجية المحتوية على مركبات سامة ثابتة (Stable) ضد التحلل المائي (Hydrdyss) أو ضد الحرارة ومنها :

٢-١-الخلط (Blending) :

حيث تقطع العينة (maceration) لقطع صغيرة ثم تؤخذ وزنه مناسبة بكأس الخلاط عالي السرعة (High speed blender) مع ضعف وزنها مذيب ويجرى الخلط لمدة كما يتراى للمحلل وطبيعة العينة والمركب . ثم يرشح محتوى الكأس خلال عمود كروماتوجرافي أو قمع بخنر مع ملاحظة نقل محتويات كأس الخلاط كمياً للعمود (القمع) ثم يمرر المرشح على كبريتات صوديوم لامائية لتجفيفه .

٢-٢-النقع (Soaking):

كما سبق

٢-٣-التقطير (Distillation) :

وفيها يتم فصل المركب السام عن باقي محتويـات العينـة وذلـك تبعـا لإختلاف الضغط البخاري للموكب فعند درجة حرارة وضغط معين نجـد أن التركيزات عند الإتزان يكون في صورة سـائلة أو بخاريـة وعليـه يكـون الإتزان (K) فعند تواجد الصورتين معاً (السائلة والغازية) فإن :

قيمة K < ١ وذلك عندما يكون المركب أقل تطاير
وقيمة K > ١ وذلك عندما يكون المركب أكثر تطايراً .

٢-٤-التوزيع التجزيئى (Partition Distribution) :

وهنا يتوزع السم بين مذيبين غير قابلين للإمـتزاج (Immisable) ويحكـم عملية الفصل معامل الانتشار (Destributin Coefficient : K) حيث:

K = تركز السم فى المذيب الأول (C_1) ÷ تركيزه بالمذيب الثانى (C_2)

ومعامل الانتشار ذو قيمة ثابتة ومساوية لدرجة ذوبان المركب بـالمذيبين وغالبا ما يكون إحداهما هو الماء (حيث يستحوذ على كـل جزئيـات السـم القطبية) والآخر مذيب عضوى تتواجد فيه بتركيز عـالى المركبـات الغـير قطبية .

ملحوظات :

- قد تجرى عمليات هز أو طرد موكزى للعينة فى المستخلص لزيـادة كفاءة الأستخلاص . .
- في حالة إستخلاص العينات ذات التركيب المائى (طمـاطم) يضـاف إليها حجم مماثل من مذيب مرافق (Co-solvent) قابل للامتزاج مع المـاء مثل الأسيتون أو الأيثانول أو الأيزوبروبانول حيث يتـم النقـع ويحـدث الإتزان ثم يضاف بعد ذلك المذيب المناسب بضعف حجم العينـة لمنـع تكوين مستحلب (Emulsion) قد يصعب كسرة بين المحتوى المائى للعينة والمذيب المستخدم والغير ممتزج معه كالبنزين أو رابع كلوريد الكربـون وفى حالة تكون المستحلب يمكن كسره بواسطة :

- إضافة كبريتات الصوديوم اللامائية قبل الخلط أو التفتيت أو النقع لنزع الماء المسبب لتكوين المستحلب .
- ترك المستحلب ٢يوم/١٠°م بأناء محكم فتتغير الصفات الطبيعية للمستحلب مما يؤدى لكسرة
- إضافة المذيب فى ضعف حجم العينة يقلل من إحتمال تكوينه وإذا تكون بكسر بزيادة نسبة المذيب عن الضعف أو إضاقة مذيب آخر
- بإستخدام الطرد المركزى أو التقليب بهدوء
- إضافة مذيب مساعد خاصة مع الخضروات الطازجة أو المجمدة المحتوية على نسبة كبيرة من الماء ممتزج معها مثل الأيزوبروبانول والذى يحقق درجة ذوبانه .

وعادة ما يقسم الاستخلاص تبعاً لمعامل التوزيع إلى :

٢-٤-١-١الإستخلاص البسيط (Simple extract):

وذلك عندما يكون معامل التوزيع كبير جداً (<١٠٠) فيمكن إستخلاص المركب بإستخدام دفعة واحدة من المذيب المناسب والذى لا يمتزج مع المذيب الذي يحمل المركب فى العينة من خلال قمع فصل .

٢-٤-٢-الإستخلاص المتعدد (Multiple extract):

وذلك عندما يكون معامل التوزيع صغير (<١) فأنه يفضل إستخلاص المركب على عدة دفعات بإستخدام نفس الحجم من المذيب وذلك حتى يتسنى الحصول على أكبر كفاءة ممكنة ، أى أنه:

- إذا كانت قيمة الثابت K>١ فى المذيب الأول ، <١ فى المذيب الثانى فأن الاستخلاص على مرة واحدة يكون كافى لحدوث فصل تام بينهما .
- أما إذا كانت المادتين لهما معاملى توزيع متقارب فأن الاستخلاص على دفعة واحدة يعطى فصل جزئي للمركب وهنا يفضل الإستخلاص على عدة دفعات بإستخدام نفس الحجم من المذيب .

والمثال التالى يوضح الدور الذى يلعبه معامل التوزيع فى الحصول على كفاءة إستخلاص عالية عن طريق الإستخلاص على دفعة واحدة أو على دفعتين بإستخدام نفس الحجم من مذيب الإستخلاص .

فعند إستخلاص ٤جم من المركب (ف) والموجود في عينة مائيـــة حجمـــها ٥٠٠ ملل يلزم حجم قدره ٥٠٠ ملل داي إيثيل إيثر و كان معـــامل التوزيـــع لهما علي درجة حرارة ٢٣ °م هو ٣ :

- فعند الإستخلاص علي دفعة واحدة :

K =تركيز المركب في المنيب الأول /تركيز المركب في المنيب الثاني= C_1 / C_2

٣= (X−٤) .٠,٥/ ٠,٥ (X) = X/X−٤

إذن الكمية المسترجعة بالداي إيثيل إيثر =٤−١=٣جم

إذن كفاءة الإسترجاع =٣/٤ . ١٠٠ = ٧٥ %

- وعند الإستخلاص علي دفعتين :

K =تركيز المركب في المنيب الأول /تركيز المركب في المنيب الثاني= C_1 / C_2

٣=(X−٤) .٠,٥ = ٠,٧٥ (٣)   X =٠.٦٤جم

إذن الكمية المسترجعة بالداي إيثيل إيثر بالدفعة الأولي =٤−١,٦=٢,٤ جم

٣=١,٦−(X)/٠,٢٥/(X)/٠,٢٥=٠,٢٥(X)١,٦ = ٠,٢٥/ ٠,٥ (X) ٣٠٢ = ٠,٢٥/ ٠,٥ (X)/٥

(X)= ٠,٦٤ جم

إذن الكمية المسترجعة بالداي إيثيل إيثر بالدفعة الثانية :

نسبة الإستخلاص الثاني =١,٦−٠,٦٤ = ٠,٩٦

إذن نسبة الإستخلاص الكلي =٢,٤+٠,٩٦ = ٣,٥٦ جم

إذن كفاءة الإستخلاص = ٣,٥٦ / ٤ . ١٠٠ =٨٤ %

أي أن الإستخلاص علي دفعتين أكفأ من الإستخلاص علي دفعة واحدة.

وقد تنقسم عملية الاستخلاص الى :

- إستخلاص كلى (Total residues extraction) :

وفيها يتم إستخلاص المتبقيات السامة مـــن ســطح العينـــة والمســماه بالمتبقيات السطحية (Surface residues) وكذلك المتبقيات الســـامه الموجــودة داخل الأنسجة (Intesnal residues) وهنا يستخدم الخـــلاط (Blender) وأجـــهزة الهرس اليدوية والميكانيكية (الحبوب والبذور) .

- إستخلاص سطحي (Surface rsidues extraction) :

حيث يتم إستخلاص المتبقيات السامة على السطح الخـــارجي فقــط سواء بالغسيل (Washing) بتيار هادئ من المذيب أو بأستخدام أجـــهزة الـــهز (Shacker) لفترة محدودة أو النقع لفترة قصيرة حتى لا تتاح الفرصـــة ليتخلــل المذيب بالداخل حاملا معه بعض المتبقيات الخارجيـــة للداخــل أو الداخلــة للخارج نتيجة حدوث الإتزان

- إستخلاص داخلي (Internal residues extraction) :

حيث يتم إستخلاص المتبقيات الداخلية بعد إتمام إستخلاص المتبقيـــات السطحية وإستبعادها ويعد ذلك تجزيئ للعينة وتستخلص بالخلاط أو النقـــع أو بالنقع والهز

وعمليات الإستخلاص السابقة لا ينتج عنها إســـتخلاص كـــامل (Whole extraction) للسم من العينة ولكن ما يحدث هو حالة إتزان (Equilibrum) بيـــن جزئيات المركب والمذيب ومادة العينة لذا يلزم المزيد من التفتيت والـــهرس أو الرج أو النقع مع زيادة الوقت المستغرق لذلك فكلما زاد التفتيت أو النقـــع كلما زادت نسبة المركب المستخلص حيث تؤخذ عينات على فترات وتحلـــل وعند ثبات نتائج عينتين متتاليتن نكون وصلنا لحالة الإتزان ويكون :

وقت الاستخلاص = وقت العينة الاولى + وقت العينة الثانية /٢

حيث أن زيادة الوقت بعد ذلك لا تؤدى لزيادة مضطردة فـــى كميـــة الســـم المسترجع (Recovered amount) فغالباً ما يتم إستخلاص ٨٠-٩٠ %فى الدقـائق الأولى حتى عشرة دقائق ثم تظل ثابتة أو تزيد بدرجة غـــير ملحوظـــة فـــى الساعات التالية ١٠-٢٠ % وقد يستغنى عن هذه النسبة لتوفير الوقت ولكــن لا يجب وأن يقل معدل الإسترجاع عن ٨٥ % ومن هنا يمكن تقدير فاعليـــة الطريقة المستخدمة فى الإستخلاص عن طريق تقدير معدل الإسترجاع كمـــا سبق الإشارة إليه .

فصل مخلوط من مركبين بإستخدام مذيبين مختلفين :

لإذابة مخلوط يحتوى على مركبين كيميائيين مستخلصين (2- extractable solutes) فيجب وأن تختلف نسبة معدل ذوبانهما فى النظام المذيبى المـــزدوج المستخدم وهنا يعتمد الاستخلاص والفصل على الإختلاف فى قيمة (K) لكلا

المذيبين أى يعتمد على معدل K_1 ، K_2 والتى تمثل بعامل الفصل أو قيمة معامل التجزيئ (P) حيث K_1 ، K_2 هما معاملا تجزئيى المذيبين أي أن :

$$P = K_2/K_1$$

تقدير قيمة معامل التجزيء (P-value : P) :

تعرف قيمة معامل التجزيئى بأنها الكمية الجزيئية فى الوسط غير القطبى فى نظام الفصل المزدوج لمذيبين غير ممترجين (الأسيتونتريل / الهكسان) بحجم متساوى وتفيد هذه القيمة فى تطوير الإستخلاص والتنقية بالتجزيئى علاوة على تأكيد النتائج المتحصل عليها من منحنيات الكروماتوجرافي الغازى وكذا الكروماتوجرافى السائل عالى الأداء وتقدر قيمة معامل التجزيء (Pvalue) من خلال وضع عينة ذات تركيز معين فى إنبوبه ١٠ملل ثم يضاف اليها ٥ملل من مذيب غير قطبى ويقدر التركيز بواسطة جهاز الكروماتوجرافي الغازي ثم يضاف إلي الأنبوبة بعد ذلك حجم متساوى من المذيب القطبى (٥ملل) وترج الأنبوبة رجا دورانيا على جهاز الرج الدوامى لمدة دقيقة واحدة ثم تحلل الطبقة المحتوية على المذيب غير القطبى كما سبق وتكون قيمة معامل التجزيء (P-value) هى النسبة بين التحليل الثانى والتحليل الأول :

معامل التجزيء (P-value)= التركيز المتحصل عليه بعد التحليل الثانى فى الوسط غير القطبى / التركيز المتحصل عليه بعد التحليل الأول فى الوسط غير القطبى

ونجد أن هذة القيمة تتأثر كثيرا بنظام الفصل المذيبى المزدوج المستخدم وكذا بدرجة الحرارة والتركيز(حيث تقاس القيم بكيميات أقل من جزء فى البليون PPb) ومدة الرج وطريقة التقدير .

هذا ويستخدم عدد من نظم الفصل المذيبى المزدوج فى تقدير قيمة معامل التجزيئى وتوضح الجدول التالي رقم(٢-٣) لقيم معامل التحزيئى (P-Values) لبعض المركبات بإستخدام أزواج مذيبات مختلفة :

جدول رقم (٢-٣) : قيم معامل التجزيئي لبعض المبيدات والمركبات الشبيهة والمقدرة للتوزيعات الفردية بين أوساط غير قابلة للإمتزاج على درجة حرارة ٢٥,٥ ± ٠,٥ ْم :

المركبات	نظام المذيبات						
	R_f(relaive to R_f of Aldrin)	هكسان أسيتونتريل	%٨٥ ٢و٢و٤ -تراي ميثيل بنتان DMF:	%٨٥ ٢و٢و٤ -تراي ميثيل بنتان/ DMF	%٩٠ هكسان DMSO/	%٩٠ هكسان /إيثانول	%٨٠ ٢و٢و٤ -تراي ميثيل بنتان/ أسيتون
Naled	0.005	0.12	(a)	(a)	0.085	0.23	0.39
Ethylene dibromide	0.005	0.29	(a)	(a)	0.48	0.58	0.76
Fumazone	0.018	0.23	0.12	0.32	0.36	0.54	0.76
Penphene	0.066	0.76	0.58	0.89	0.98	0.79	0.87
Dichlobenil	0.075	0.11	0.080	0.15	0.19	0.26	0.60
Zinophos	0.25	0.058	0.036	0.23	0.15	0.16	0.40
Barban	0.27	0.019	0.003	0.007	0.003	0.13	0.37
Chloro-IPC	0.31	0.19	0.14	0.17	0.16	0.26	0.72
CDEC	0.33	0.22	0.13	0.32	0.35	0.46	0.86
Phorate	0.34	0.26	0.11	0.44	0.61	0.56	0.83
Shell SD 8447	0.35	0.18	0.077	0.24	0.18	0.42	0.85
trifluralin	0.37	0.23	0.21	0.81	0.84	0.72	0.93
lansefo neu	0.38	0.023	0.007	0.010	0.008	0.077	0.34
lindane	0.41	0.12	0.052	0.14	-0.093	0.41	0.78
PCNB	0.43	0.41	0.23	0.67	0.79	0.82	0.95
Bayer 30911	0.44	0.23	0.071	0.24	0.33	0.49	0.79
Dioxathion(prim.p)	0.49	0.068	0.038	0.12	0.21	0.39	0.95
Stauffer N-2790	0.50	0.21	0.081	0.33	0.44	0.48	0.79
Diazinon	0.51	0.28	0.18	0.52	0.75	0.39	0.75
Dichlone	0.52	0.073	0.027	0.068	0.068	0.34	0.57
Di-Syston	0.54	0.16	0.089	0.36	0.47	0.54	0.82
endosulfan ether	0.61	0.29	0.14	0.42	0.43	0.45	0.85
Bayer 38156	0.70	0.22	0.12	0.39	0.51	0.48	0.76
Hercules 426	0.70	0.50	0.20	0.72	0.79	0.74	0.98
Heptachlor	0.77	0.55	0.21	0.73	0.77	0.71	0.96
methyl parathion	0.77	0.022	0.012	0.015	0.015	0.11	0.40
Dioxathion (sec-P)	0.84	0.11	0.055	0.25	0.44	0.35	0.81
butonate	0.87	0.013	b 0.005	b 0.014	c 0.078	0.043	0.080
Bayer 41831	0.91	0.036	0.016	0.046	0.074	0.24	0.55
Malathion	0.96	0.042	0.015	0.037	0.077	0.14	0.46
Zytron	0.97	0.12	0.058	0.14	0.12	0.35	0.79
fenson	0.98	0.048	0.013	0.032	0.035	0.20	0.61
aldrin	1.00	0.73	0.38	0.86	0.89	0.76	0.98
1-hydroxychlordene	1.01	0.068	0.026	0.062	0.033	0.15	0.56
Bayer 25141	1.03	0.82	0.32	0.78	0.81	0.77	0.90
Parathion	1.04	0.044	0.029	0.082	0.094	0.30	0.76

تابع جدول رقم (٢-٣) :

Dimite	1.04	0.25	0.077	0.27	0.37	0.47	0.81
Kelthane	1.05	0.15	0.043	0.18	0.029	0.32	0.81
Dicapthon	1.06	0.031	0.019	0.044	0.051	0.25	0.61
Chlorthion	1.08	0.026	0.013	0.039	0.032	0.16	0.56
Chlorobenzilate sec.	1.08	0.22	0.062	0.24	0.40	0.38	0.93
dicryl	1.09	0.040	0.029	0.041	0.012	0.066	0.31
Telodrin	1.11	0.48	0.17	0.63	0.65	0.73	0.94
Bayer 37289	1.14	0.54	0.18	0.75	0.78	0.72	0.88
Isodrin	1.18	0.60	0.28	0.78	0.86	0.76	0.97
Dyrene	1.26	0.041	(a)	(a)	0.014	0.17	0.61
Heptachlor epoxide	1.29	0.29	0.10	0.39	0.35	0.57	0.89
Morestan	1.41	0.34	0.14	0.43	0.53	0.54	0.65
Folpet	1.43	0.066	0.015	0.036	0.025	0.23	0.51
Ruelene	1.43	0.031	0.012	0.013	0.012	0.11	0.21
y-chlordane	1.48	0.40	0.14	0.48	0.45	0.56	0.95
Genite 923	1.53	0.08	0.032	0.076	0.093	0.30	0.67
Sulphenone	1.54	0.023	0.012	0.009	0.013	0.087	0.32
Chlorbenside	1.62	0.24	0.039	0.21	0.29	0.52	0.86
Endosulfan(I)	1.65	0.39	0.16	0.52	0.55	0.64	0.93
Ovex	1.72	0.068	0.024	0.061	0.053	0.28	0.69
Shell SD-8447	1.78	0.051	0.038	0.051	0.044	0.093	0.47
Dieldrin	1.98	0.33	0.12	0.46	0.45	0.54	0.88
p,p'-DDE	2.05	0.56	0.16	0.65	0.73	0.76	0.96
endrin	2.24	0.35	0.15	0.51	0.52	0.59	0.92
endosulfan (II)	1.27	0.13	0.060	0.14	0.093	0.34	0.82
Aramite	2.43	0.13	0.075	0.23	0.30	0.43	0.85
Methyl Trithion	2.47	0.075	0.019	0.075	0.081	0.42	0.82
Perthane	2.60	0.26	0.077	0.44	0.46	0.70	0.93
Endrin aldehyde	2.65	0.082	0.041	0.083	0.053	0.15	0.79
TDE	2.72	0.17	0.038	0.15	0.081	0.46	0.89
o,o'-DDT	2.74	0.45	0.10	0.42	0.53	0.62	0.91
chlorobenzilte prim p	2.77	0.14	0.032	0.12	0.14	0.28	0.76
o,p'-DDT	2.84	0.47	0.11	0.51	0.66	0.68	0.96
Kepone	2.91	(e)	(e)	(e)	(e)	0.16	0.43
Neotran (prim.Peak)	3.07	0.47	0.11	0.59	0.73	0.77	0.93
ethion	3.08	0.079	0.045	0.20	0.38	0.41	0.83
Prolan	3.15	0.050	0.017	0.048	0..029	0.25	0.75
endosulfan sulfate	3.17	0.035	0.015	0.23	0.010	0.16	0.68
Rhodia r.p. 11783	3.19	0.019	0.006	0.012	0.01	0.16	0.38
carbophenotion	3.31	0.21	0.037	0.27	0.35	0.56	0.90
p,p'-DDT	3.63	0.38	0.084	0.36	0.40	0.64	0.93
Bulan	3.95	0.10	0.024	0.10	0.072	0.36	0.86
endrin -keto	4.08	0.10	0.052	0.077	0.062	0.21	0.76
Geigy G-28029	5.00	0.29	0.065	0.43	0.43	0.64	0.91
EPN	5.60	0.38	0.011	0.033	0.046	0.24	0.71
Dinocap (prim.peak)	5.62	0.092	0.049	0.27	0.54	0.50	0.98
Methoxychlor	5.99	0.069	0.023	0.092	0.12	0.44	0.74
Mirex	6.04	0.91	0.33	0.98	0.93	0.88	0.99
Tetradifon	6.44	0.10	0.041	0.13	0.13	0.40	0.78
Guthion	6.45	0.008	0.002	0.003	0.03	0.14	0.18
dinocap (secon. Peak)	7.09	.082	0.041	0.22	0.05	0.48	0.94

a : Solvent interferes with GLC zones under this condition.
b: Reduced initial response (reaction with system?). Dyrene response continues to diminish on standing.
c :Converted to substance Rt =0.70.
d :R_t changes after equilibration (reaction with system?).
e :p-Values differ at different concentrations of analysis.
b :Actually two zones emerging as one.

ومما سبق نجد أن طرق الإستخلاص بالمذيبات لأم مركب يختلف تبعاً لطبيعة المتبقيات وكذا طبيعة المادة المستخلصة حيث تتوقف على نسبة محتوى العينة من الدهون وعلى نسبة محتواها المائى وكذا نسبة السكريات بها ولهذا نجدها تختلف من عينة لأخرى كذلك تختلف كيفيتها والمذيبات المستخدمة فيها ولهذا يجب قبل البدء فى أى عملية إستخلاص لأى عينة سواء كانت عينة زراعية أو مائية أو أسماك أو أنسجة حيوانية ومنتجاتها أو أغذية بمختلف أصنافها الرجوع إلى الجدول والذى يصنف فيه العينات السابقة الإشارة لها ومحتواها الدهنى والرطوبى والسكريات .

وما هو جديد بالذكر قبل إستعراض الطرق المناسبة لإستخلاص متبقيات المبيدات من المكونات البيئية المختلفة لا بد وأن تحقق هذة الطريقة قدراً كبيراً من هذه الإعتبارات :

- الكفاءة العالية فى إستخلاص المتبقيات دون المواد الدخيلة والتى قد تؤثر فى نتائج التحليل سواء اللونى أو بأجهزة الكروماتوجرافي الغازي(GC) أو الكروماتوجرافي السائل العالي الكفاءة (HPLC).
- ألا تحدث تغير فى طبيعة التركيب الكيميائى للمتبقيات .
- أن تكون قادرة على أعطاء نفس النتائج عند تكرارها أكثر من مرة تحت ظروف نفس المعمل (Reproducibility)
- إستخدام مذيبات رخيصة الثمن ولا تشكل خطورة على القائمين بعملية التحليل .
- أن تكون عملية الإستخلاص سريعة ودقيقة حيث أن عامل الوقت يلعب دور هام فى معامل التحليل الروتينى لمتبقيات المبيدات .
- إستخدام أدوات وأجهزة غير معقدة وسهلة التنظيف .

وفيما يلي الطرق المناسبة لاستخلاص متبقيات المبيدات من المكونات البيئية المختلفة :

١-العينات المائية (Water samples) :

يتم إستخلاص متبقيات المبيدات الفوسفورية العضوية الغير قطبية والكلورونية العضوية غير القطبية من العينات المائية بأستخدام ١٥% ميثلين كلوريد فى الهكسان وبإستخدام ميثلين كلوريد فقط فى حالة المبيدات الفوسفورية العضوية القطبية (ن-أريل ، أ-أريل) وكذا مركبات الكربامات والتراى أزين واليوريا حيث يجفف المستخلص من الرطوبة وذلك بإمرارة على عمود كبريتات صوديوم لامائية ثم يركز لحجم نهائى قدره ٥ملل لإستكمال باقى عمليات التحليل (التنقية (Clean-up) والتقدير (Detemination)) .

٢-عينات التربة والتربة الرسوبية (Soil and Sediment samples) :

حيث يراعى التخلص من الرطوبة التى قد تتواجد فى العينة وذلك في حالة :

٢-١-التربة الجافة : تفرد فى أطباق زجاجية أو على شرائح ألمونيوم لمدة ليلة

٢-٢-التربة الرسوبية: تفرد فى أطباق زجاجية أو على شرائح ألمونيوم لمدة ثلاث أيام حتى تتوازن الرطوبة الموجودة بها مع الرطوبة الجوية .
وقد يتطلب الأمر إضافة كبريتات صوديوم لا مائية وتخلط جيداً حتى تصبح جافة تماماً .

حيث تستخلص المبيدات الكلورونية والفوسفورية العضوية منها بإستخدام نظام مذيبى مكون من الهكسان والأسيتون (١:١) باستخدام وحدة سوكسلت أو بالرج فى زجاجات ذات غطاء محكم لمدة ١٢ ساعة على ١٨٠ لفة / دقيقة فى جهاز الرج الكهربائى (Shaker) حيث يؤخذ المستخلص بعد ذلك ويجزئ مع الماء فى قمع فصل وتؤخذ طبقة الهكسان العلوية لإستكمال باقى مراحل التحليل .

٣-عينات الهواء (Air samples) :

يتم إستخلاص المبيدات الكلورنية والفوسفورية العضوية من عينات الهواء عن طريق إمتصاصها فى الاثيلين جليكول لمدة ١٢ ساعة والموجود فى وعاء وحدة Graensbeug-smith impinger تحت نظام سحب لعينة الهواء أو عن طريق وضع الوعاء مفتوح لمدة أسبوع فى المكان المراد التقدير فيه بعدها ينقل الإثيلين جليكول إلى قمع فصل بإستخدام الماء ويتم التجزئة بالهكسان حيث تؤخذ بعد ذلك طبقة الهكسان (العلوية) لإستكمال باقى مراحل التقدير

٤-الأغذية غير الدهنية:أقل من ٢%دهن (Nonfatty foods) :

٤-١-الأغذية غير الدهنية أقل من ٢%دهن عالية الرطوبة (أكثر من ٧٥%) وذات مستوى سكريات أقل من ٥% :

يتم إستخلاص المبيدات السابقة الذكر من المنتجات عالية الرطوبة وذات مستوى سكريات أقل من ٥% من الأغذية غير الدهنية أقل من ٢% دهن عن طريق خلط عينة ١٠٠جم مع الأسيتونتريل ٢٠٠ ملل لمدة ٢-٥ دقيقة ثم يتم الترشيح خلال قمع بوخنر ويستقبل الراشح ويقاس حجمة بدقة (F) ثم ينقل لقمع فصل ويستخلص عدة مرات بالبتروليم إثير ١٠٠ملل بعد إضافة حجم معين من الماء ٦ملل ويقاس حجم المذيب المستخلص (P) حيث من الممكن حساب وزن العينة الموضوعة فى عمود الفلورسيل بالجرام بإستخدام المعادلة التالية :

وزن العينة بالجرام الموضوعة في عمود الفلوروسيل =

وزن العينة X حجم الراشح بدقة (F)/الحجم الكلي للماء بالعينة بالإضافة لحجم الأسيتونتريل المضاف (T) X حجم المذيب المستخلص (P)/١٠٠

$$g = S \cdot (F/T) \cdot (P/100)$$

حيث تعبر : (S) عن وزن العينة

(F) حجم الاسيتونتريل الراشح

(T) الحجم الكلى للماء للماء فى العينة+حجم الأسيتونتريل

(P) حجم البترو ليم إيثر المسترجع

فعلى سبيل المثال عند تحليل عينة وزنها ١٠٠ جم بإستعمال ٢٠٠ملل أسيتونتريل وكان الحجم الكلى للماء والأسيتونتريل (T) ٢٨٠ مل (٢٠٠مل أسيتونتريل + ٨٠ مل ماء فى العينة وحجم المسترجع (F) هو ١٩٥ملل وحجم المسترجع من ١٠٠مل بتروليم إيثر من ٨٥ ملل (P)

وعليه فأن وزن العينة بالجرام التى وضعت على عمود الفلورسيل =١٩٥. ٢٨٠/١٠٠ . ٨٥ / ١٠٠ = ٥٩,٢ جرام

٤-٢-أغذية غير دهنية أقل من ٢% دهن عالية الرطوبة(أكثرمن ٧٥%) وذات مستوى سكريات من ٥-١٥% :

يتم الإستخلاص للمركبات السابقة الذكر بخلط ١٠٠ جم عينة مع ٥٠ملل ماء و ٢٠٠ملل أسيتونتريل لمدة ٥دقائق ثم إتباع نفس الخطوات السابقة وهنا تكون قيمة (T) = حجم الماء فى العينة مع مراعاة عدم إستخدام أكثر من ٢٥٠ ملل مسترجع أسيتونتريل (٢٤٥ملل) .

٤-٣-أغذية غير دهنية أقل من ٢% دهن عالية الرطوبة (أكثر من ٧٥%) وذات مستوى سكريات من ١٥-٣٠% :

يتم الإستخلاص للمركبات السابقة الذكر بإستخدام مخلوط الأسيتونتريل (٢٠٠ملل) والماء الساخن (٥٠ملل/٧٥°م) حيث يخلط مع ١٠٠جم عينة لمدة ٥دقائق واتباع نفس الخطوات السابقة بعد التبريد وهنا تكون قيمة (T) = حجم الماء فى العينة +٢٤٥ملل.

٤-٤-أغذية غير دهنية أقل من ٢% دهن متوسطة الرطوبة (أقل من ٧٥%) والجافة وذات مستوى سكريات أقل من ٥% :

يتم إستخلاص المركبات السابقة الذكر عن طريق خلط العينة (٢٠-٢٥جم) مع ٣٥٠ملل أسيتونتريل فى الماء ٣٥% لمدة خمسة دقائق وإتباع نفس الخطوات السابقة . وفى هذة الحالة تكون قيمة (T) = حجم الماء فى العينة + ٣٥٠مل أسيتونتريل مع مراعاة عدم إستخدام أكثر من ٢٥٠مل من مسترجع الأسيتونتريل . فعلى سبيل المثال وعند إستخلاص ٢٥جم عينة تحتوى على نسبة ١٠,٣ % رطوبة فإن الحجم الكلى

T = ٣٥٠+(٢٥جم x ١٠,٣ %) = ٣٥٣ ملل تقريباً :

٥-الأغذية الدهنية : أكثر من ٢% دهن (Fatty food) :

٥-١-الأنسجة الحيوانية (Animal tissues) :

تخلط الأنسجة الحيوانية المحتوية على أكثر من ٢% دهن (٢٥-٥٠جـم) مع ١٠٠ جم كبريتات صوديوم لامائية في الخلاط لمدة ٢-٥دقيقة مع مراعاة أن يكون وزن العينة المستخلص لا يحتوى على أكثر من ٥ جم دهن ثم يتـم بعد ذلك الإستخلاص بواسطة إضافة ١٥٠مل بترولیم إيثر إلى كأس الخـلاط ويتم الخلط لمدة دقيقتين ثم يرشح المستخلص خـلال قمـع بوخـنر ويعـاد الإستخلاص مرة ثانية على المتبقى من الأنسجة في كأس الخلاط بإسـتخدام ١٠٠مل بتروليم إيثر لمدة دقيقتين ويتم الترشيح أيضا كما سبق خـلال قمـع بوخنر مع مراعاة غسيل جدران الكأس بثلاث دفعات مـن البـترولیم إيـثر (٢٥-٥٠مل) والترشيح أيضاً ثم يمرر المترشح على عمود نزع الرطوبـة المعبأ بكبريتات صوديوم لامائية حيث يتم بعدها تركيز المستخلص بإسـتعمال تيار من الهواء أو النيتروجين ويسجل وزن الدهون المستخلص حيث يؤخـذ وزن (٣جم) منة للتحليل بالفصل التجزيئى بإسـتعمال الأسـيتونتريل ومـن الممكن حساب وزن العينة الأصلية المستخدمة فـى التحليـل عـن طريـق المعادلة التالية :

وزن العينة الأصلية (المستعمل فى التحليل) =

وزن الدهن الذى أخذ للتحليل/وزن الدهن المستخلصX وزن العينة الأصلية

٥-٢-الزبدة (Butter) :

يتم تسخين الزبدة فى حمام مائى على درجة ٥٠°م حتى ينفصل الدهن ثم يرشح خلال ورق ترشيح من نوع (fluted filter paper) حيث يؤخذ ٣جم مـن الدهن للفصل التجزيئى بإستعمال الأسيتونتريل .

٥-٣-الجبن (Cheese) :

تؤخذ عينة من الجبن من ٢٥-١٠٠ جم (ليتسنى منها الحصول علـى وزنة ٣ جم دهن) حيث تخلط مع أكسالات صوديوم أو بوتاسيوم (٢جم) فـى وجود كحول الإيثايل أو الميثايل (١٠٠ملل) لمدة ٢-٣ دقيقة علـى السـرعة العالية بالخلاط ثم تنقل محتويات الكأس إلى أنبوبـة طـرد مركـزى سـعة

٥٠٠ملل حيث يضاف إلى هذه المحتويات ٥٠ملل داى إيثايل إيثر ويتم الـرج لمدة دقيقة ثم يتم إضافة ٥٠ ملل بتروليم إيثر ويتم الرج أيضاً لمدة دقيقة ثـم يتم الطرد المركزى على سرعة ١٥٠٠ لفة/دقيقة / ٥ دقائق حيـث تؤخـذ الطبقة العلوية بعد ذلك وتنقل إلى قمع فصل يحتوى على ٦٠٠ملل ماء و ٣٠ ملل كلوريد صوديوم مشبع ويتم الرج ويعاد الإستخلاص مرتيـن بإسـتخدام ٢٥ملل داى إيثايل إيثر و ٢٥ملل بتروليم إيثر على الطبقـة المائيـة حيـث تجرى بعد ذلك الطبقة المائية وتؤخذ طبقة المذيب وتمرر على عمـود نـزع الرطوبة ويتم التركيز بإستعمال تيار من الهواء أو النتروجين للحصول علـى ٣جم دهن للفصل التجزيئى بالأسيتونتريل

٥-٤-اللبن (Milk) :

يؤخذ عينة ١٠٠ملل من اللبن (يخفف اللبن المركز بحجم مسـاوي مـن الماء) فى زجاجة طرد مركزى سعة ٥٠٠ ملل حيث يضـاف إليـها ١جـم أكسالات صوديوم أو بوتاسيوم فـى وجـود كحـول الإثيـايل أو الميثـايل (١٠٠مل) ويتم الخلط ثم يتم إضافة ٥٠ ملل داى إيثايل إيـثر والـرج لمـدة دقيقة ثم يضاف ٥٠ ملل بتروليم إيثر والرج لمدة دقيقـة ثـم يتـم الطـرد المركزى على سرعة ١٥٠٠لفة/دقيقة /٥ دقائق وكذلك يكرر ما سـبق فـى عينات الجبن

٥-٥-الزيوت : (Oils) :

يؤخذ ٣ جم زيت وتستخلص بالبتروليم إيثر ثم يتم التوزيـع التجزيئـى بالأسيتونتريل ثم التنقية بعمود الفلورسيل ويتم الإشارة إليها فما بعد .

٥-٦ الأنسجة البشرية (Human tissues) :

تسحق الأنسجة البشرية وخاصة الدهنية فـى وجـود الرمـل النظيـف وكبريتات الصوديوم اللامائية والتقليب بإستعمال المجنس مع إضافة كبريتـات الصوديوم اللامائية حتى يتم الحصول على كتل محببة جافة يؤخذ منها ٥جـم للإستخلاص بإستعمال البتروليم إيثر والترشيح كما سبق .

٥-٧ الدم أو السيرم (Blood or serum) :

تؤخذ عينة من الدم أو السيرم ذات بحجم ٢مل ويتم إضافة ٦مل هكسان إليها ثم ترج على جهاز الرج الدائرى على سرعة ٥٠-٥٥لفة/دقيقة / ساعتين بعدها توضع فى جهاز الطرد المركزى على سرعة ٢٠٠لفة/دقيقة/ ٥دقائق حيث يؤخذ ٥ملل من مستخلص الهكسان الناتج (الطبقة العلوية) ويتم التركيز لحجم نهائى يتناسب وطريقة التقدير . ويوضح الجداول التالية طرق الإستخلاص المناسبة لبعض أفراد البيريثرينات المصنعة وكذلك التنقية من بعض المكونات البيئية :

جدول رقم (٢-٤) : طرق الإستخلاص والتنقية المناسبة لبعض البيرثرينات

Compound/ substrate	Extraction solvent	Partition solvent	Column chromatography	Elution solvent	Analysis mode
			Moist Crop Samples		
Bioresmethrin					
(cismethrin, deltamethrin, fenvalerate, permethrin, phenothrin, & resmethrin)					
Vegetables[a] & fruits[a]	Acetone-hexane (1.1)	Hexane	Silica[b]	Dichloromethane-hexane (1·4), discarded dichloromethane	GLC & HPLC
Biphenthrin					
Peaches & tomatoes or peach foliage[c]	Acetone	Hexane	Florisil	Ethyl acetate-hexane (5·95)	GLC
(Cyhalothrin, cypermethrin, deltamethrin, & permethrin)					
Vegetables and fruits	Acetone-petroleum ether (20:80)		Florisil[d]	—	GLC[e]
Cyhalothrin					
(Esfenvalerate & flucythrinate)					
Cotton leaves or cotton leaves[c]	Isopropanol-hexane (1:3) or hexane	Hexane	Florisil[e]	Ethyl acetate-hexane (6·94)[f]	GLC
Cypermethrin					
(Fenpropathrin, fenvalerate & permethrin)					
Vegetables	Acetone	Hexane	Florisil[d] or silica or alumina	Benzene-hexane (80 20)	GLC

(Fenvalerate & permethrin)					
Tissues & egg yolk or milk	Water-acetonitrile (15:85) or acetonitrile	Acetonitrile, hexane, or hexane alone	Florisil[a]	Dichloromethane-hexane (20:80), discarded acetonitrile-dichloromethane-hexane (0.35:50:50)	GLC
meat[c] & egg[c] or milk	Acetone-hexane (1:1)	Hexane	Florisil suspended in acetonitrile & washed with hexane	Diethyl ether-hexane (25:75)	GLC
			Florisil[b]	Diethyl ether-hexane (15:85)	
(Deltamethrin)					
Fish eggs	Water-acetonitrile (3:1)	None	C_8 RP cartridge	Acetonitrile-water (1:1) discarded hexane	GLC
			Alumina[d]		
			Silica[e] cartridge prewashed with diethyl ether-hexane (1:10)	Hexane Diethyl ether-hexane (1:10)	
Deltamethrin					
Tissues, fat, feces, milk, or urine	Water-acetone (30:100), hexane, or water-hexane (1.5)	Hexane or acetonitrile evaporated & residue dissolved in benzene-hexane (1:1) or hexane	Florisil[f]-25% cellulose in activated charcoal and washed with benzene-hexane (1:1) None	Benzene-hexane (1:1)	GLC
Tissues or	Petroleum-diethyl ether (1:1)	Residue dissolved in acetonitrile, washed with petroleum ether	GPC on Styragel swollen in diisopropyl ether	Diisopropyl ether	GLC
			Dry Crop Samples		
Bioresmethrin					
Whole wheat	Acetone-hexane (1.3)	None	Alumina suspended in dichloromethane-hexane (1:9) or none[g]	Dichloromethane-hexane (1.9) discarded dichloromethane-hexane (3.7)	HPLC
(Piperonyl butoxide)					
Whole wheat	Hexane	None	None		GLC
(Cismethrin, cypermethrin, deltamethrin, fenpropathrin, fenvalerate, permethrin, phenothrin, resmethrin, & tetramethrin)					
Finely ground grain	Acetone-methanol (1:1)	Dichloromethane	Alumina (acidic) suspended in dichloromethane	Dichloromethane	HPLC
(Deltamethrin, fenvalerate, permethrin, & phenothrin)					
Whole rice	Acetone	Hexane	Florisil Sep-Pak cartridge or alumina (basic) or C_{18} HPLC-precolumn[h]	Acetone-hexane (15:85) Acetone Acetonitrile-water (40:60) followed by acetonitrile-water	HPLC

Fenvalerate					
Soil	Water-acetone-hexane (20:130:130)	Hexane	Alumina[a] (acid)	Diethyl ether-hexane (1:19) discarded diethyl ether-hexane (1·9)	GLC
Soil	Acetone-hexane (1:1)	Hexane, acetonitrile	Florisil	Ethyl acetate-hexane (5:95)	GLC
Sediment	Acetone-hexane (1:1)	Hexane	Florisil Sep-Pak cartridge	Diethyl ether-hexane (1·1)	GLC
Fluvalinate					
Soil acidified	0 1 N HCl-acetone-hexane (10·85 85)	Hexane	Florisil[i] GPC on Bio-Beads SX-3	Diethyl ether-pentane (10 90). Dichloromethane-cyclohexane (15.85)	GLC
Permethrin					
Soil	Water-methanol (1:9)	Dichloromethane	Florisil[b] prewashed with diethyl ether-hexane (1 9)	Diethyl ether-hexane (1·9)	GLC
Soil[c]	Acetone-hexane (20:80)	Hexane	Florisil[b]	Diethyl ether-hexane (5·95)	GLC
			Fractosil (wide-pored silica gel)	Diethyl ether-hexane (2 5 97 5)	
Hydrosoil	Acetone-hexane (20.80), methanol-water (1 1) (reflux)	Dichloromethane	None		HPLC
(Resmethrin)					
PUI plugs & cotton gloves	Diethyl ether-hexane (5·95) (Soxhlet)	Hexane	None		GLC

Waters

Cypermethrin					
(Fenvalerate, deltamethrin, & permethrin)					
Water	Hexane	None	None		GLC
Waters	Hexane	None	Florisil[b]	Diethyl ether-hexane (15 85)	GLC
Deltamethrin					
Pond water filtered and acidified to pH 1	Dichloromethane	Hexane	Florisil[d]	Acetone-hexane (1 99)	GLC
Fenvalerate					
Seawater	SPE on Sep-Pak C_{18} cartridges eluted with methanol	Hexane	Florisil[b]	Ethyl acetate-hexane (3·97)	GLC
Water	Acetone-hexane (20:50)	Hexane, acetonitrile	Florisil	Ethyl acetate-hexane (5·95)	GLC
Seawater	SPE on C_8 cartridge eluted with diethyl ether-hexane (1:1)	None	None		GLC
Pond water acidified	SPE on C_{18} cartridge eluted with acetone	None	None		GLC

تركيز المستخلصات قبل تنقيتها :

يجب وأن تركيز المستخلصات قبل إجراء عمليتي التخزين لحين باقي عمليات التحليل وهنا يجب أن يتم تخزين المركزات تحت ظروف تخزين مناسبة لكل مركب والتأكد من عدم تأثر متبقيات المركب أو نواتج تحولاته بظروف التخزين المختلفة وذلك بإجراء معدلات الإسترجاع تحت هذه الظروف التي تتوسط عمليات التحليل .

كذلك يتم تركيز المستخلصات أيضا قبل إجراء عملية التنقية وبعدها إلي أحجام مناسبة لعملية التحليل في النهاية ولو أنه يفضل إجراء عملية التنقية بعد الإنتهاء من عملية الإستخلاص مباشرة خاصة في حالة العينات المحتوية علي متبقيات لسموم هيدروكربونية عضوية فوسفورية أو كرباماتية وذلك لسرعة تمثيلها لعدم ثباتها .

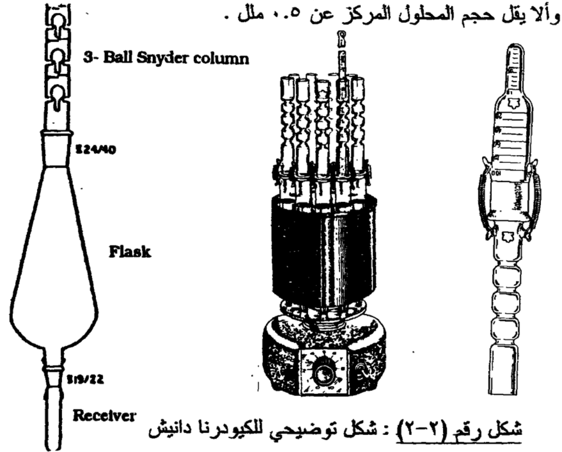
وعموما تتم عمليات تركيز المستخلصات قبل تنقيتها بإحدي الطرق التالية علي أن تحفظ العينات بعدها في أوعية محكمة الغلق علي درجة الصفر ويمكن إستخدام الشريط اللاصق (الورق الشمعي) لمنع تسرب أبخرتها :

١-التبخير بإستخدام تيار هوائي(Air-evaporation) :

حيث يوضع كأس المستخلص ذو الفوهة الواسعة لزيادة مسطح السطح المعرض لتيار الهواء البارد أو الساخن نتيجة إستخدام حمام مائي تضبط درجة حرارته علي الدرجة المطلوبة والتي تتناسب ودرجة ثبات المركب المراد تركيزه ويوضع به كأس العينة. أو قد يستخدم مجفف الشعر (Hair dryer) أو قد يستخدم غاز النيتروجين في التبخير خاصة مع المستخلصات التي يخشي عليها من أكسدة مكوناتها لو إستخدم تيار الهواء . ويراعي تجفيف تيار الهواء المستخدم خاصة أثناء المراحل الأخيرة من التبخير ويجب وأن يكون تيار الهواء هادي (Gentle air-stream) مع خفض درجة الحرارة حتى لا يحدث فقد في التركيز . وقد تضاف ميكروليترات من الإيثيلين جليكول أو حمض الإستياريك أو زيت خفيف شفاف للتغلب علي تقشر المتبقيات الجافة وتطايرها .

٢-الكيودرنا دانيش (Kuderna danish) :

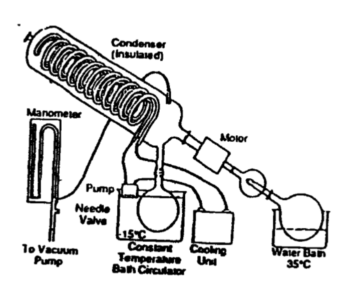
حيث يوضع المستخلص المراد تبخيره بـالمخزن السـفلي (Reservoir) ذو السعات المختلفة ويوضع معه قطع من الزجاج (Glass beds) لمنع الفوران ثـم تثبت فوهتها في عمود سنيدر ذو الثلاث أو الخمس كرات 3or 5 ball Snyder) column) حيث ترتكز الكرات الزجاجية علي وسائد زجاجية فتسمح بتسـريب أبخرة المذيب علي دفعات حيث دفعات منها ترتد مذيبة لمخلفات العينة المراد تركيزها والمترسبة علي جدران العمود الداخلية وباقي الوحدة وتعـود فـي النهاية الي المخزن . وتستمر عملية التبخير بوضع أنبوبة التركـيز السـفلية المدرجة في حمام الماء علي درجة الحرارة المناسبة المرغوبة ، شكل رقـم (٢-٢) . وعند وصول حجم المستخلص بأنبوبة التركيز المدرجة (المخـزن السفلي) ترفع من الحمام وتبرد ثم يفصل وتؤخذ الأنبوبة المدرجة وتغطـي بإحكام بغطائها المصنفر وتحفظ بالثلاجة لحين إكمال باقي خطـوات التنقية والتحليل مع مراعاة ألا يزيد حجم العينة لأقل من ٥ملل خاصـة فـي حالـة إستعمال عمود سنيدر الدقيق والذي يتصل بأنبوبة التركيز مباشرة وهنا يجـب وألا يقل حجم المحلول المركز عن ٠.٥ ملل .



شكل رقم (٢-٢) : شكل توضيحي للكيودرنا دانيش

٣-التركيز تحت ضغط (Concentration under vacuum):

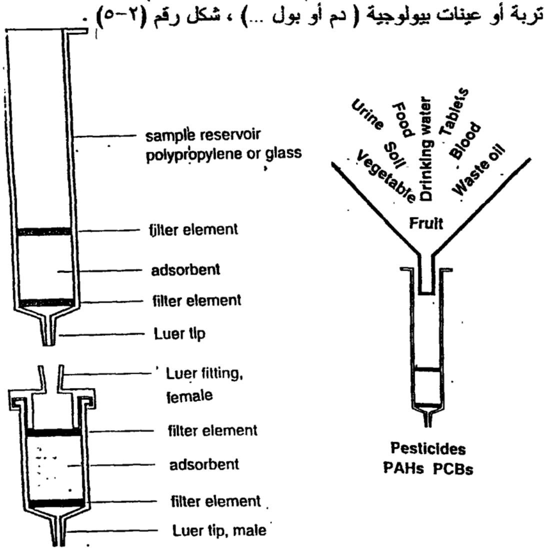
حيث تستخدم وحدة التبخير الدائري تحت ضغط (Rotary evaporator) سواء أكانت ذات ضغط مرتفع (RHV) وذلك مع السموم الثابتة أو ذات ضغط منخفض (RLV) مع السموم الغير ثابتة ، شكل رقم (٢-٣) . فعند دوران المخزن في حمام الماء الساخن لدرجة تتلائم والمركب المراد فصل متبقياته وطريقة التقدير فيتكون علي جدرانها فيلم من المذيب الذي بملامسة الدورق للماء الساخن بالحمام سرعان ما يتبخر بفعل الحرارة الملامسة للمخزن المتحرك بإستمرار .



شكل رقم (٢-٤) : جهاز التبخير الدوراني تحت ضغط

الإستخلاص بالطور الصلب (Solid phase Extraction : SPE) :

أستخدمت أعمدة الإستخلاص ذات الطور الصلب خلال السنوات الماضية بنجاح هائل كطريقة بسيطة سهلة وسريعة لإعداد وتجهيز العينات للتحليل سواء كانت هذه العينات أطعمة (خضراوات أو فاكهة) أو عينات مياه أو تربة أو عينات بيولوجية (دم أو بول ...) ، شكل رقم (٢-٥) .



شكل رقم (٢-٥):إستخدام الإستخلاص بالطور الصلب في التحليل المتعدد للمتبقيات(Multi residue analysis) في مكونات النظام البيئي

فعامل الوقت يلعب دوراً هاماً في العديد من معامل التحليل الكيميائيـة و البيوكيميائية لذا أصبح من الضـروري إسـتخدام هـذه الطريقـة مقارنـة بالإستخلاص المذيبي التقليدي (Liquid –liquid extraction) من حيـث إخـتزال

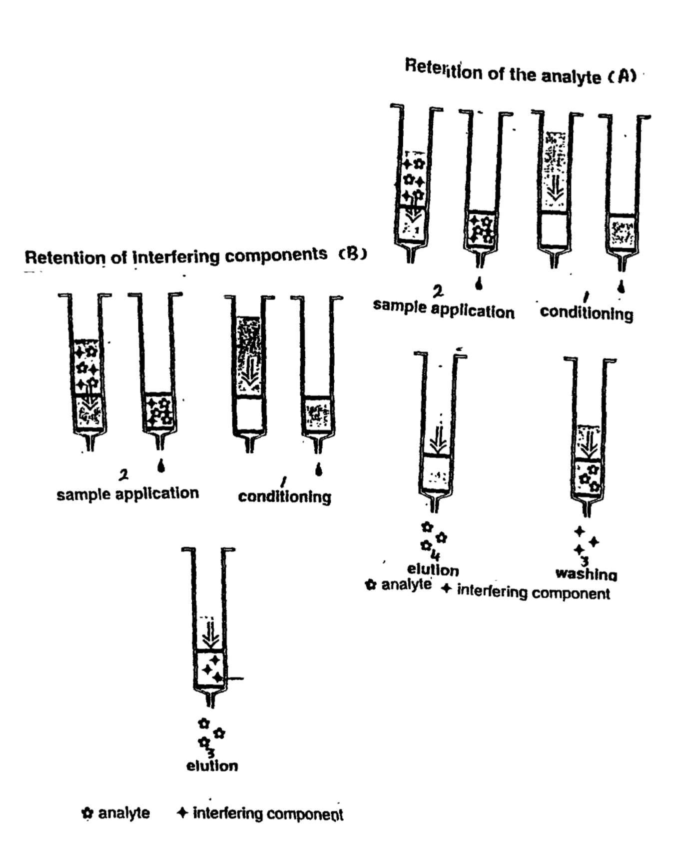
حجم المذيب بالإضافة إلي عامل الوقت وزيادة درجة الحساسية أثناء القياس سواء بالكروماتوجرافي الغازي(Gas Chromatography : GC) أو الكروماتوجرافي السائل فائق الأداء(High Performance Liquid Chromatography HPLC) وكروماتوجرافي التفريد بالطبقة الرقيقة (Thin Layer Chromatography : TLC) والطرق الإسبكتروفوتومترية الأخرى سواء أكانت بالأشعة الفوق بنفسيجية (UVL) أو الأشعة التحت حمراء (IR) .

وتسوق هذه الأعمدة تجاريا تحت عدة أسماء (Chrombond columns or Chromafix cartridges) وتصنع من مادة البولي بروبيلين (Poly propylene) والتي تستخدم عادة مع معظم المذيبات ومع معظم متبقيات السموم والملوثات البيئية حيث يصنعا بمقاسات مختلفة (٠,٤ و ٠,٨ و ١,٨ ملل) تحفظ بداخلها مادة الإدمصاص (Adsorbent) وبأوزان مختلفة بين فلترين ذات مقاومة للفعل المذيبي ، كذلك توجد أعمدة زجاجية (Chrombond columns) ذات أحجام مختلفة (١و٣و٦ ملل) .

والفكرة الأساسية لعمل هذه الأعمدة هي أما :

- حجز المركب موضع التحليل :بعد إجراء تهيئة للعمود أولا بالمذيب المناسب تطبق العينة علي العمود والمحتوية علي المركب موضع التحليل فيتم حجز المركب والشوائب المصاحبة له والتي يتم إزالتها من علي مادة الإدمصاص بمحلول غسيل مناسب تاركة المركب محتجز علي مادة الإدمصاص لحين إزاحته بسائل الإزاحة المناسب .
- حجز الشوائب المصاحبة للمركب فبعد إجراء تهيئة للعمود أولا بالمذيب المناسب تطبق العينة علي العمود والمحتوية علي المركب موضع التحليل فيتم حجز الشوائب المصاحبة له علي مادة الإدمصاص نتيجة قوة إدمصاصها في حين يزاح المركب بسائل إزاحة مناسب تاركا الشوائب الدخيلة المصاحبة له علي مادة الإدمصاص ، شكل رقم (٢-٦).

كذلك قد تستخدم هذه الطريقة أيضا كطريقة لتنقية المستخلصات ، جدول رقم (٢-٤) :



شكل رقم (٢-٦) : رسم تخطيطي يوضح الفكرة لأساسية للإستخلاص بالأعمدة ذات الطور الصلب

جدول رقم (٢-٤) : أهم خصائص وتطبيقات مواد الامتصاص بالإستخلاص بالطور الصلب

التطبيقات الموصى بها	المحتوى الكربون	حجم الحبيبة	spec. surface [m2/g]	end Capped	surface modification	المادة الأساسية	الوسط
pesticides, nonpolar compounds	14	45	500	no	octadecyl	SiOH	C18
like C18, but faster flow	14	100	500	no	octadecyl	SiOH	C18 f
nonpolar compounds, aflatoxins, amphetamines, antibiotics, antiepileptics, barbiturates, preservatives, drugs, caffeine, fatty acids, nicotine PAH, pesticides, PCB, heavy metals vitamins	14	45	500	yes	octadecyl	SiOH	C18ec
like C 18ec, but faster flow	14	100	500	yes	octadecyl	SiOH	C18ec f
PAH from water	14	45	500	no	special octadecyl modification	SiOH	C18PAH
pesticides, PCB	8	45	500	no	octyl	SiOH	C8
aflatoxins, caffeine, phenole	8	45	500	no	phenyl	SiOH	C_6H_6
trace elements, lipids	3.5	45	500	no	aminopropyl	SiOH	NH_2
similar to NH2 - slightly weaker anion exchanger	3.5	45	500	no	dimethylamino	SiOH	DMA
antibiotics, prostaglandins	5.5	45	500	no	diol	SiOH	OH
cyclosporins, carbohydrates	5.5	45	500	no	cyanopropyl	SiOH	CN
aromatics	5.5	45	500	no	nitrophenyl	SiOH	NO_2
aflatoxins, chloramphenicol, pesticides, steroids, vitamins	-	45	500	no	unmodified, high, purity, pore, volume 0.75ml/g	SiOH	SiOH
amino acids, chlorophyll, PCB	-	45	500	no	benzenesulphonic acid, capacity 0.85meq/g	SiOH	SA
organic acids, cafeine, saccharin	-	45	500	no	quaternary amine capacity 0.50meq/g	SiOH	SB
together with SA for PCB and pesticides	-	60-150	150	no	neutral, high purity pore volume 0.90ml/g	aluminium oxide	ALOX N
organic tin compounds, aliphatic carboxylic acids, PCB, PAH	-	150-250	-	no	high purity	MgO-SiOH	Florisil
flavonoids, PAH	-	40-80	-	no	unmodifieid, high purity	polyamide 6	PA
phenols, nitroaromatics and pesticides from water, PAH from oil	-	50-100	1200	no	special modification	polystyrene di-vinylbenzene copolymer	HR-P

PAH — Polycyclic Aromatic Hydrocarbon

PCB — Poly Chlorinated Biphenyls

كما أن هناك بعض الأوساط المتخصصة لنظام الإستخلاص بـــالأعمدة ذات الطور الصلب (SPE) سواء أكانت من مكون إدمصاص واحد أو أكــثر مــن مكــون لإســتخلاص الــهيدروكربونات الأروماتيــة عديــدة الحلقــات (Polycyclic Aromatc Hydrocarbons : PAH) أو البيفينــولات عديــدة الكلــــور (Poly Chlorinated Biphinyles : PCB) علي سبيل المثال حيث أستخدم عمود مكــون من مخلوط CN/SioH لإستخلاص ستة عشر مركب هيدروكربونـــي أرومــاتي عديدة الحلقات من عينات التربة كما أستخدم عمود C18 لفصــــل المركبــات السابقة بعدلات إسترجاع بلغت ٩٧ % وفي حالات أخري أســـتخدم عمــود مكون من مخلوط إدمصاص C18 / NH2 لفصل المركبات السابقة الذكر مـــن عينات الماء الغنية بالأحماض الدوبالية حيث يقوم وسط الأمين بإزالـــة هــذه الأحماض ، جدول رقم (٢_٥)

جدول رقم (٢-٥) : الأوساط المتخصصة للإستخلاص بالطور الصلب وإستخداماتها :

الوسط المتخصص	الإستخدام
CN/SIOH	إستخلاص الهيدروكربونات الأروماتية عديدة الحلقات (PAH) من التربة .
CN	يمسك الهيدروكربونات الأروماتية عديدة الحلقات (PAH) وتزاح بالأسيتونتريل .
SIOH	إزالة المركبات القطبية
C18 PAH	علي درجة عالية من التخصص (PAH)
NH2/C18	إستخلاص الهيدروكربونات الأروماتية عديدة الحلقات (PAH) من الماء
NH2	إزالة الأحماض الدوبالية
C18	يمسك الهيدروكربونات الأروماتية عديدة الحلقات (PAH)
SIOH-H +/SA	لإستخلاص البيفينولات عديدة الكلور (PCB)
SIOH-H +	أكسدة المركبات المرافقة إلي مركبات أيونية أو قطبية
SA	إزالة المركبات الأيونية والمحتوية علي كبريت
SIOH	إزالة المركبات القطبية
SA / SIOH	إستخلاص البيفينولات عديدة الكلور(PCB) من مخلفات الزيت(مستخلص الهكسان)
NAW	لإستخلاص البيفينولات عديدة الكلور (PCB) من التربة الرسوبية .
SIOH Ag NO3	إزالة الكبريت والمركبات المحتوية عليه .
HR-P Adsorbent resin	إستخلاص الفينولات والمبيدات ونواتج تمثيلها القطبية من الماء . إستخلاص مركبات النيترو الأروماتية من الماء إستخلاص الهيدروكربونات الأروماتية عديدة الحلقات (PAH) من الزيت

إعداد العينات للإستخلاص بالوسط الصلب:

للإستخلاص المباشر مع مواد الإدمصاص يجب وأن تفي العينـــة البيئيـــة بالإعتبارات الثلاثة التالية :

- يجب وأن تكون العينة البيئية المائية ذات لزوجة منخفضة .
- يجب وأن تزال المواد الصلبة من العينة المائية .
- يجب وان تكون العينة البيئية مناسبة لحجز المركب المراد تحليله .

وعلي الجانب الأخر يكون هناك طرق مختلفة تساهم فـــي تجـــهيز العينـــات الصلبة وجعلها مناسبة للتحليل ومن أهمها :

- إذابة العينة الصلبة في المذيب المناسب .
- تجفيف العينة وإذابتها في المذيب المناسب .
- إستخلاص العينة الصلبة في المذيب المناسب .
- تجنيس وخلط العينة مع المذيب المناسب .

والمذيب المناسب هنا هو المذيب القادر علي نزع المركب المراد تحليلـــه من العينة .
فعلي سبيل المثال العينات المحتوية علي كميات كبيرة من المواد الصلبـــة تخلط وتمزج مع المذيبات القطبية بينما العينات ذات المحتوي المائي العـــالي يتم إذابتها في الأحماض والقواعد والمحاليل المنظمة والمذيبات القطبية .
ومما هو جدير بالذكر أن المنتجات الطبيعيـــة تســـتخلص بالميثـــانول أو الأسيتون ويمكن زيادة قطبية المستخلص الناتج بتخفيفه بالماء لكي يزيد مـــن عدم قطبية الأستخلاص بالوسط الصلب علي عمود C 18 .
والجدول التالي رقم (٢-٦) يوضح أهم طرق إعداد وتجهيز العينات :

جدول رقم (٢-٦) : إعداد وتجهيز العينات مع الإشارة لأهم المشاكل وسبل التغلب عليها :

المادة	المشكلة	إعداد العينة للتطبيق
تربة- تربة رسوبية	امتصاصها علي المادة الصلبة	تستخلص بمذيبات غير قطبية كالهكسان ثم يتم فصل المواد المتداخلة علي مادة ادمصاص قطبية
منتجات زيتية خام	المادة المراد تحليلها عالية القطبية	تستخلص أو تزال بمذيبات غير قطبية كالهكسان وتفصل المكونات المتداخلة علي مواد ادمصاص قطبية
الخمور والعصائر كالليمون	كربوهيدرات تحتوي علي مادة قطبية	التخفيف بالماء فيضفي قطبية علي مادة ادمصاص غير قطبية أما علي مبدل أيوني فإن الحموضة تعدل بمنظم
المراهم والكريمات	التفرقة بين الزيت ونواتج أساسية مائية	يذاب الأصل الزيتي بمذيب غير قطبي كالهكسان وتفصل المواد المتداخلة علي مادة ادمصاص قطبية ، أما الأصل المائي فيذاب في مذيب قطبي كالميثانول أو الأسيتون مع التخفيف بالماء ويفصل علي مادة ادمصاص غير قطبية
الزيوت والدهون وزيوت الخضر	المواد الغير قطبية	تذاب في مذيب غير قطبي كالهكسان أو البتروليم إيثر وتفصل المواد المتداخلة علي مادة ادمصاص قطبية علي
الحبوب	محتوي دهني محتمل	تستخلص بمذيب غير قطبي كالهكسان وتفصل المواد المتداخلة علي علي مادة ادمصاص غير قطبية
الفاكهة والخضر		تستخلص بمذيب قطبي كالميثانول والأسيتون وتخفف بالماء إذا لزم الأمر ثم تحلل بمادة ادمصاص غير قطبية
العينات الفسيولوجية: دم بلازما سيرم بول	المحتوي البروتيني	ترسب البروتينات وتخفف العينة بنفس الحجم من الماء أو منظم وتفصل علي مادة ادمصاص غير قطبية
الماء	المواد الدوبالية	تزال المواد الدوبالية علي السيليكا وتفصل علي مادة ادمصاص غير قطبية

طرق الإستخلاص بالعمود الصلب :

تتضمن طرق الإستخلاص بالعمود الصلب الخطوات الرئيسية التالية :

١-تهيئة مادة الإدمصاص (Conditioning : Solvatization of the Adsorbent):

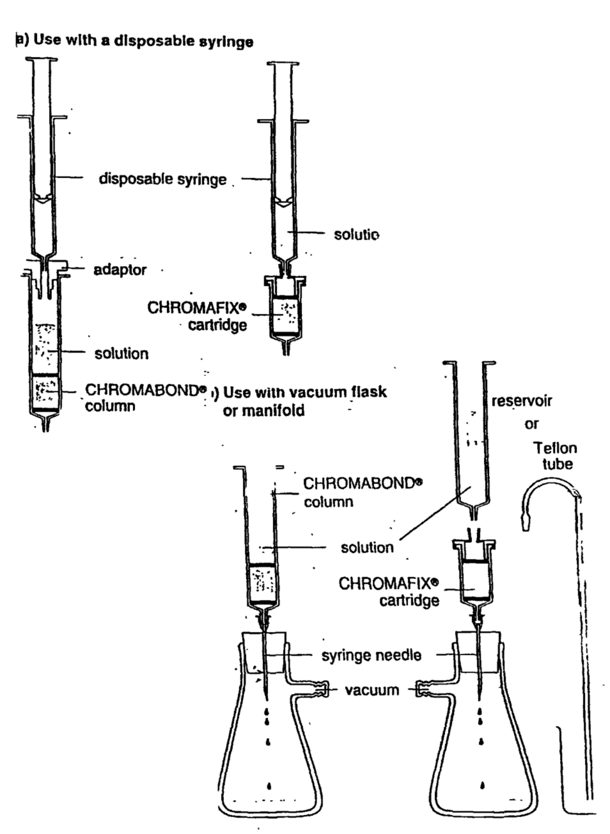
حيث يكون من الضروري تهيئة مادة الإدمصاص بتبليلها بالنظام المذيبي المستخدم حيث تهيء مواد الإدمصاص غير القطبية عادة بمذيبات تقبل الخلط بالماء مثل الميثانول والأيزوبروبانول وبحجم يتراوح بين ٢-٣ حجم العمود المستخدم متبوع بالمذيب القادر علي إذابة المركب مجال التحليل أما في حالة مواد الإدمصاص القطبية فتهيء بمذيبات غير قطبية ويجب عدم ترك مادة الإدمصاص بالعمود للجفاف بعد إجراء عملية التهيئة ، جدول رقم (٢-٧) .

جدول رقم (٢-٧) :أهم المذيبات المستخدمة في الوسط الصلب ومدي قابليتها للمزج مع الماء :

درجة القطبية	المذيب	قابلية المزج مع الماء
↓	هكسان	لا يمتزج
	أيزوأوكتان	لا يمتزج
	بتروليم إيثر	لا يمتزج
	سيكلوهكسان	لا يمتزج
	رابع كلوريد الكربون	لا يمتزج
	كلوروفورم	لا يمتزج
	ميثيلين كلوريد	لا يمتزج
	تتراهيدروفيوران	يمتزج
	داي إيثيل إيثر	لا يمتزج
	إيثيل أسيتات	يمتزج
	أسيتون	يمتزج
	أسيتونتريل	يمتزج
	أيزوبروبانول	يمتزج
	ميثانول	يمتزج
	ماء	يمتزج
	حمض خليك	يمتزج

٢-معاملة العينة علي مادة الإدمصاص (Sample application : Adsorption) :

حيث تعامل العينة علي مادة الإدمصاص عقب عمليـة التهيئـة مباشـرة وللحصول علي أداء عالي تعامل العينة تحت ضغط موجب أو سالب بمعـدل سريان ٣ملل/دقيقة سواء بإستخدام حقنة جـاهزة للإسـتعمال أو بإسـتخدام مضخة دورق بوخنر أو مضخة تسع ٢٤ عمود أو بإستخدام الطرد المركـزي كما بالشكل التالي رقم (٢-٧) .



شكل رقم (٢-٧): معدل سريان محلول الغسيل أو الإزاحة بأعمدة الإستخلاص ذات الطور الصلب تحت ضغط موجب (a) أو سالب (b,d)

٣-غسيل مادة الإدمصاص (Washing of the Adsorbent) :

يتم غسيل العينة علي مادة الإدمصاص بسوائل غسيل خاصة وقد تكـــون عملية الغسيل في بعض الأحيان غير ضرورية ومما هو جدير بالذكر أنه فــي حالة إختلاف القطبية بين محلول الغسيل والمزاح بدرجة كبـــيرة أو بمعنـــي أخر عدم قابليتها للإمتزاج يكون هنا من الضروري جفاف مادة الإدمصـــاص بعد عملية الغسيل .

٤-الإزاحة (Elution) :

يجب وأن تكون عملية إزاحة المزاح غير سريعة وهي تعتمد علي قطـــر العمود وكمية مادة الإدمصاص به (تقريباً ١ملل/دقيقة) ، شكل رقم (٢-٨)

sample solubility	soluble in wate					soluble in organic solvents		
	not ionic			ionic				
solvent	aqueous			aqueous		aqueous	organic	organic
sample polarity	nonpolar	moderately polar	polar	cationic	anionic	nonpolar	moderately polar	polar
phases recommended for adsorption	C18 ec C18 C8 Phenyl CN	SiOH NH_2	CN OH PA DMA NH_2	SA	SB NH_2 DMA	C18 ec C18 C8 Phenyl CN	SiOH NH_2	CN OH PA DMA NH_2
solvents recommended for elution (selection)	hexane CH_2Cl_2 aceto-nitrile alcohols	$CHCl_3$ CH_2Cl_2 ethyl acetate alcohols water	$CHCl_3$ CH_2Cl_2 ethyl acetate alcohols water	acids salt solutions buffers	bases salt solutions buffers	hexane CH_2Cl_2 aceto-nitrile alcohols	$CHCl_3$ CH_2Cl_2 ethyl acetate alcohols	$CHCl_3$ CH_2Cl_2 ethyl acetate alcohols

<u>شكل رقم (٢-٨):</u> دليل إختيار أوساط الإستخلاص بالطور الصلب والمذيبات المستخدمة في عملية الإزاحة

ومما سبق نجد أن هذه التطبيقات تعمل كطرق عامة للإستخلاص والتنقية تشمل إزالة المواد الدخيلة والدهون والسكريات والمركبات العضوية المؤكسدة كما تشير أيضا إلي إستخلاص المواد الطبيعية كالألكالويدات والزانثينات من العينات البيولوجية كالأطعمة والأنسجة النباتية والسوائل الفسيولوجية وكذلك إستخلاص المواد الفعالة المستخدمة في العقاقير الطبية من مستحضراتها وأيضا الملوثات الأروماتية والفينولات والمركبات المعدنية من العينات البيئية المختلفة .

والجداول التالية (٢-٩) توضح أهمية تطبيقات هذه الطريقة في إستخلاص بعض السموم والملوثات البيئية من مكونات النظام البيئي :

جدول رقم (٢-٩أ) : معدل إسترجاع الهيدروكربونات الآروماتية عديدة الحلقات من الماء والتربة والزيوت علي عمودC/8 PA :

(%) معدل الإسترجاع Recovery	Compound المركب	
٨٧	Naphthelene	نافثالين
٨٩	Acenaphthylene	أسينافيثيلين
٩٠	Acenaphthene	أسينافثين
٨٢	Fluorene	فلورين
٨٥	Phenanthrene	أنثراسينفين
٩٠	Anthracene	أنثراسين
٨٩	Fluoranthene	فلورانثين
٨٩	Pyrene	بيرين
٨٧	Benz(a)anthracene	بنز(ا) أنثراسين
٩٥	Chrysene	كريسين
٩١	Benzo(b)fluoranthene	بنزو(ب) فلورانثين
٨٩	Benzo(k)fluoranthene	بنزو(ك) فلورانثين
٩٠	Benzo(a)pyrene	بنزو (أ) بيرين
٩٧	Dibenz(ah)anthracene	داي (أوه) أنثراسين
٩١	Benzo(ghi)perylene	بنزو (ج ه ى) بيريلين
٩٦	Indeno(1.2.3-cd)pyrene	إندينو ١و٢و٣) بيرين

· جدول رقم (٢-٩ب) :معدلات الاسترجاع لبعض مبيدات الحشائش على عمود HR-P من العينات المائية

معدل الإسترجاع (%)Recovery	المركب (Compound)	
٩٧	Linuron	لينيورون
٩٩	Monolinuron	مونولينيورون
١٠٠	Diuron	ديورون
٩٩	Isoproturon	أيزوبروتيورون
٩٦	Metobromuron	ميتوبروميورون
٩٧	Chlortoluron	كلورتوليورون
٩٨	Metabenzthiazuron	ميتابنزثيازيورون
٩٦	Metoxuron	ميتوكسيورون
٩٨	Metazachlor	ميتازاكلور
٩٧	Metolachlor	ميتاكلور
٩٤	Propham	بروفام
٩٦	Atrazine	أترازين
٩٧	Simazin	سيمازين
٩٩	Cyanazine	سياناازين
٩٦	Sebuthylazine	سيبوثيلازين
٩٤	Terbuthylazine	تيربيوثيلازين
٩٧	Desisopropylatrazine	ديس أيزوبوبيل أترازين
٩٦	Desethylatrazine	ديسثيلازين
٩٦	Hexazinone	هكسازينون

جدول رقم (٢-٩ج) : معدلات إسترجاع لبعض الهيدروكربونات الآروماتية على عمود HR-P من العينات المائية

Recovery (%)معدل الإسترجاع	Compoundالمركب	
٩٨	2-Naphthol	٢-نافثول
٩٥	1-Naphthol	١-نافثول
٩٨	2,4-Dinitrotoluene	٢و ٤-داي نيتروتولوين
٩٦	2-Nitrotoluene	٢ -نيتروتولوين
٩٢	1-Nitrotoluene	١-نيترو تولوين
٩٥	3-Nitrotoluene	٣-نيتروتولوين

جدول رقم (٢-٩د): معدلات إسترجاع بعض مبيدات حشائش مجموعة الترای أزين على عمود HR-P من العينات المائية

معدل الإسترجاع Recovery	(Compound) المركب	
٩٨	Atrazine	أترازين
٩٤	Ametryn	أميترين
٩٩	Desisopropylatrazine	ديس أيزوبروبيل ترازين
٩٨	Desethylatrazine	ديس ثيلازين
٩٣	Terbuthylazine desethyl	تيربيوثيلازين
٩٨	Propazine	بروبازين
٩٣	Desmetryn	ديسميترين
٩٥	Prometryn	برومترين
٩٦	Simetryn	سيميترين
٩٥	Terbutryn	تيربيوترين
٩٤	Atratone	أتراتون
٩٨	Secbumeton	سيبيوميتون

جدول رقم (٢-٩هـ): معدلات إسترجاع مركبات هيدروكربونية آروماتية (الفينولات) على عمود HR-P من العينات المائية

(%)معدل الإسترجاع Recovery	Compoundالمركب	
97	Phenol	فينول
٩٢	4-Nitrophenol	2,4-٤-نيتروفينول
٩٨	Dinitrophenol	٢و ٤-داي نيتروفينول
٩٣	2-Nitrophenol	٢-نيتروفينول
٩٠	2-Chlorophenol	٢-كلوروفينول
٩٣	2-Methyl-4,6-dinitrophenol	٢-ميثيل ٤و ٦-داي نيتروفينول
٩٥	2,4-Dimethylphenol	٢و ٤-داي ميثيل فينول
٩٢	4-Chloro-3-methylphenol	٤-كلورو ٣-ميثيل فينول
٨٩	2,4-Dichlorophenol	٢و ٤-داي كلوروفينول
٩٥	2,4,6-Trichlorophenol	٢و ٤و ٦-تراي كلوروفينول
٩٠	Pentachlorophenol	بنتا كلوروفينول

جدول رقم (٢-٩و): معدلات إسترجاع للهيدروكربونات عديدة الحلقات على عمود CN/SIOH من عينات التربة

Recovery معدل الإسترجاع	Compound المركب	
٨٥	ene	
٩٢	Acenaphthylene	أسينافيثيلين
٨٩	Acenaphthylene	أسينافيثيلين
٨٧	Fluorene	فلورين
٣	Phenanthrene	فينانثرين
٨٨	Anthracene	أنثراسين
٨٧	Flouranthene	فلورانثين
٩٠	Pyrene	بيرين
٨٤	Benz(a)anthracene	بنز(ا) أنثراسين
٩٦	Chrysene	كريسين
٩٥	Benzo(b)fluorantene	بنزوفلورانتين
٩٠	Benzo(k)fluoranthene	بنزو(ك)فلورانسين
٩٠	Benzo(a)pyrene	نزو(ا)بيرين
٩٦	Dibenz(ah)anthracene	داي بنزو(اه) أنثراسين
٨٧	Benzo(ghi)peryleneبيرلين	بنزو(ج ه ى)
٩٧	Indeno(1.2.3-cd)pyrene	إنديتو(١و٢و٣) بيرين

٢-عملية تنقية المستخلصات (Clean-up : Purification) :

وهي عملية فصل أو تجريد جزيئات المكونات المراد إستخلاصها من المواد المتداخلة معها (Interference) وهو ما يتطلب إجراء واحد أو أكثر من العمليات التالية :

٢-١-عمليات تنقية كيميائية: (Chemical clean up) :

وهى الطرق الكيميائية المستخدمة فى فصل المركبات عن المواد المتداخلة معها مثل :

٢-١-١-الأكسدة (Oxidation) :

وهنا يتم تنقية المركب من المواد المتداخلة معه فى المستخلص بعملية أكسدة متحكم فيها مع الأخذ فى الاعتبار أن تكون عينات السم ثابتة كيماويا تحت ظروف الأكسدة ، بينما تتأكسد المواد المتداخلة (الشوائب) لمركبات قابلة للذوبان فى القلويات فيتم فصلها بمذيب مناسب . وتجرى عمليات الأكسدة باستخدام حمض الخليك أو فوق الكلوريك أو النتريك أو كلورات البوتاسيوم .

وقد يحدث العكس فتتأكسد بعض السموم (الفوسفورية العضوية) وتتحول لفوسفات غير عضوية بأبخرة حمض النيتريك أو الفوق كلوريك ثم تقدر فى صورة فوسفات غير عضوى يقدر لونيا أو إنزيميا .

وهنا يجب إجراء إختبارات تأكيدية (Confirmatory tests) فى عينة المستخلص للتأكد من خلوها من السم المطلوب وعدم تأثر متبقيات المركب بالطريقة المستخدمة .

٢-١-٢-التصبن (Saponification) :

وينحصر استخدامها فى تنقية السموم الثابتة كيماويا تحت الظروف القلوية العضوية وتتم عملية التصبن باستخدام الكحولات حيث ينقى المركب من بقايا المحتوى الجليسريدي العالى لمكونات العينة البيئية أو البيولوجية ، وتتم هذه العملية بنجاح على الإندرين – الألدرين – الديلرين لشدة ثباتها

بالوسط القلوى وهنا يتم التخلص من العديد من المواد المتداخلة غير المشبعة بتصبنها وجعلها أقل ذوبانا فى المذيبات العضوية

٢-١-٣-الإختزال (Reduction) :

وتعتمد عملية الاختزال على إذابة المتبقيات فى الميثانول ثم يشبع المحلول بثانى أكسيد الكبريت ثم يبخر الميثانول ويضاف الماء ثم تستخلص المذيب ثانية بأى مذيب بترولى .

فينقى مركب الباراثيون من خلال اختزال بقايا المركب بمحلول ١٥% حمض هيدروكلوريك وزنك حيث تختزل مجموعة النيترو (Nitor group) بالمركب وتتحول الى مجموعة أمين (Amino group:NH2) فيتحول الباراثيون من مركب غير ذائب فى الماء الى أمينو براثيون ذائبا فى الماء أو فى الأحماض المخففة . وهنا يصبح الباراثيون المختزل متحررا من بقايا المواد المتداخلة كالشموع والدهون والتى لا تذوب فى الماء وهنا يتم فصلها بالترشيح أو الترسيب .

٢-١-٤-التحليل المائى (Hydrolysis) :

وتتم عملية التحليل المائى باستخدام الاحماض القوية مثل مخلوط من حمض الكبريتيك المركز أو النيتريك بنسبة ١:١ خاصة مع العينات النباتية او يستخدم محلول ١٠% من حمض الهيدروكلوريك (كما في حالة الباراثيون) أو حمض الكبريتيك المدخن (كما في حالة اللندين)

٢-٢-عمليات تنقية طبيعية (Physical clean-up) :

وهى طرق طبيعية تعتمد على الصفات الطبيعية للمستخلص ومن أمثلتها :

٢-٢-١- التقطير البخارى (Steam distillation)

حيث يتم فصل متبقيات المركب الغير قابلة للتطاير (non-volatile) عن المواد المتداخلة معه والقابلة للتطاير من خلال عملية تقطير بخارى فيتم تطاير الشموع والزيوت ويتبقى بالنهاية متبقيات السم مع جزئيات من المذيب

وقد يتحلل متبقيات السم خلال هذه العملية لتكوين صورة عطرية أمينيـــة أو فينولات متطايرة مع البخار وهنا يتم استقبالها أولاً أثناء عملية التقطير.

٢-٢-٢- التجميد والبلورة (crystallization & Freezing) :

وهنا يعتمد فصل المتبقيات السامة من الدهون أو الشموع علـــى درجـــة ذوبانها فى الأسيتون المبرد -٧٠م فتذوب متبقيات المركب السام بالأســيتون المبرد بينما تترسب الشموع والدهون المتبلورة ويتم ترشيحها تاركة جزئيــات السم ذائبة بالاسيتون المبرد .

٢-٢-٣- التوزيع التجزيئي (Partition Distribution) :

حيث تفصل جزئيات المركب المذابة بين أزواج سائلة غير ممتزجة مـــن المذيبات لإختلاف كثافتهما ودرجة قطبيتهما كذلك ذو درجة غليان منخفضـــة ويكون إحدى المذيبين هو الوسط الثابت والأخر هو المتحرك (ويجـــب وأن يكون المركب قابل للذوبان فى كلاهما بمعامل توزيع أكبر من الواحد بينمـــا يكون معامل تجزيئ المواد المتداخلة معه كالشوائب أقل من الواحد الصحيـــح حيث ترج جيداً وبعد الاتزان (أى توزع جزئيات السم فى كلاهما وبمعـــدلات متباينة تبعاً لمعامل التجزيء لهذا المركب بين الوسطين (المذيبيـــن) خاصـــة عند ثبات درجة الحرارة وهنا ينفصل المخلوط فى طبقتين إحداهمـــا قطبيـــة والأخرى غير قطبية :

ويكون معامل التجزيئى kp =تركيز السم فى المذيب الأول (C1) /تركيز السم فى المذيب الثانى (C2)

وعند إستخلاص مركب الددت فى الهكسان يضـــاف الـــى المســـتخلص النهائى حجم مماثل من الأسيتونتريل ثم ترج فى قمع فصل فنجد أن متبقيـــات السم تتوزع بين طبقة الهسكان والأستيونتريل بينما تظل المـــواد المتداخلـــة بطبقة الهكسان والتى تصرف وتهمل (drain & discard) ولمزيد مـــن التنقيـــة يضاف لطبقة الاستيونتريل المتبقى بالقمع حجم أخر من الهكسان والماء ثـــم ترج بشدة وهنا تذاب متبقيات السم بدرجة أكبر فى الهكسان والمـــاء (قطبيـــة أعلى عن الأسيتونتريل) حيث تهمل طبقة الأسيتونتريل .

ومن أمثلة هذه الأزواج للمذيبات (المتفاوتة فى درجـــة قطبيتــها) حيــث يستخدم كل زوج تبعاً لطبيعة تركيب المركب السام والمواد المتداخلة معه :

- هكسان: اسيتونتريل(قطبى)
- إيثير بترولى: نيترو إيثان (قطبى)
- حمض كبريتك ورابع كلوريد الكربون (قطبى)

وترجع قطبيتهما إلى:

- قصر السلسلة الكربونية فتزداد معها القطبية
- كما أن عدم وجود الروابط الزوجية يزيد القطبية
- المجاميع الدالة القطبية الطرفية بالمذيب مثل مجموعة الأميــــن(NH2) والنيترو (NO_2) والهيدروكسيل (OH) تزيد القطبية

وتقدير المادة المسترجعة يعتمد على معامل التوزيع (K) وقد ســـبق الإشارة اليها .

٢-٣-عمليات التنقية بالفصل الكروماتوجرافى (Chromatography separation) :

ويعرف الفصل الكروماتوجرافى بأنه عملية معملية تسمح بفصل أو عـزل أو تجزئة خليط من المكونات كلاً على حده على صورة مناطق تتركز فيـــها كل مكون علي حدة أو على صورة تخالف تلك التى كانت موجـــودة عليـــها فى الخليط الأصلى وذلك من خلال توزيع هذه المكونات بين وسطين يعـــرف إحدهما بالوسط الثابت (Stationary phase) بينما يعرف الأخر بالوسط المتحـــرل (Mobile phase) وبأختلاف طبيعة الوسط الثابت سواء كان (صلب أو ســـــائل) وكذا الوســـط المتحـــرك ســـواء كـــان (ســـائل أو غـــاز) تتـــدرج طـــرق الكروماتوجراف المختلفة كما سيتضح فيما بعد .

جدول (٢-١٠) : يوضح أهم تطبيقات (SPE) لتقدير الملوثات الكيميائية في بعض مكونات النظم البيئية

نوع العينة sample type	الملوثات مجال التحليل potlidants	نوع العمود المستخدم column type	تهيئة العمود column conditioning	تجهيز واعداد العينة sample pnetreatment	غسيل العمود column washing	الأزاحة Elution
١-العينات المائية أ-ماء البحار المحيطات الانهار الترع المصارف	مبيدات الآفات PHA Polycyclic Aromatic Hydrocarbons	C18ec /5ml /500 mg	٦مل ميثانول ثم ٦مل ماء مقطر	يسحب ٥٠٠مل عينة ماء ببطئ خلال العمود	٢مل ماء مقطر	استيونزيل/ماء (٨: ٢) أو كمية بسيطة فقط من الاسيتونزيل في حالة زيادة تركيز PAH
		C18PAH/6ml/2000 mg	٦مل ميثانول ثم ٦مل ماء مقطر	اضافة ١٠مل ميثانول الى لتر ماء وتسحب العينة (اللتر) خلال العمود بمعدل (١٥-٢٠مل/دقيقة) ويجفف العمود بتيار من النتروجين	لا يوجد	٤مل استيونزيل/بنزن (٣: ١) والتركيز لحجم التقدير النهائي
		NH2/c18,6ml,500/ mg	١٠مل ميثلين كلوريد ثم ١٠مل ميثانول ثم ١٠مل (ماء مقطر-٢ بروويانول) (٩: ١)	اضافة ٢٥مل (٢-بروبانول)الى ٥٠٠مل عينة ماء ثم تسحب العينة ببطئ خلال العمود بمعدل (٥مل/دقيقة)	٢مل ماء مقطر-٢بروبانول (٩: ١) ويترك العمود لمدة ٢٠ ق تحت ضغط	٥. مل مثيلين كلوريد بدون مضخة ثم يوضع ٣ دفعات كل ٥. مل تحت ضغط ويتم التبخير بتيار النتروجين للجفاف او للحجم المناسب
	PAH – PCB Polycyclic aromatic hydrocarbos Polychlorimated B·phenyls	C18 ec 13ml /500mg	٦مل ميثانول ثم ٦مل ماء مقطر/ ٢بروبانول (٨٥: ١٥)	اضافة ٦٠مل(٢-بروبانول) الى ٥٠٠مل عينة ماء وتطبق ببطئ خلال العمود	٧٥. مل ماء مقطر/٢ بروبانول (٨٥: ١٥) وتكرر مرة أخرى	دفعتين من المثيلين كلوريد كلا ٥. مل
	Pesticicles – PAH	C18 ec/3ml/100mg	١مل ميثانول ثم ١مل ماء مقطر	سحب ٥٠-١٠٠ مل عينة خلال العمود ثم جفاف العمود تحت ضغط	لا يوجد	٥. مل خلات الايثايل بدون مضخة ويتم جمع ١٠٠ ميكرولتر

تابع جدول رقم (٢-١٠)

	Pesticides carbaryl Chlorpyrifos –iprodione-isofenphos–triadimefon	C18 ec/3ml/500mg	٣مل ميثانول ثم ٣مل ماء مقطر	اضافة ١٠مل استيون الى لتر ماء وتسحب ببطيء خلال العمود ويجفف العمود تحت تفريغ	لا يوجد	٥ملل مثيلين كلوريد لإزاحة المبيدات كلها أما فى حالة : chlorpyrsos& isofenphos فتزاح بـ ٥مل هكسان
	Pesticides Aldicarb	C18 ec/3ml/200mg	٣مل ميثانول ثم ٣مل ماء مقطر	سحب ٢٠مل من العينة ببطيء خلال العمود ويجفف العمود بتيار من النتروجين /١د	غير ضرورى	٤. مل استيونزيل ثم ١,١مل حمض HCL ٠,١٠ مولى
	Fungicide malachite green	Oh(diol) /3ml/500mg	٣مل ماء مقطر	سحب ٤٠مل من العينة ببطيء خلال العمود	٣مل ماء مقطر	دفعتين من الميثانول مع ٢% حمض خليك كلا ٥. مل
	Herbicides	HR-P/3ml /200mg	٣مل ميثانول ثم ٣ ملى ماء مقطر	سحب ١ لتر من العينة ببطيء خلال العمود بتيار من النتروجين	لا يوجد	٣دفعات كل منها ١ملل من الأسيتونزيل/ميثانول (١:١) والتبخير للحجم المطلوب
	Triazin herbicides	HR-P/3ml /200mg	٣مل ميثانول ثم ٣ ملى ماء مقطر	سحب ١ لتر من العينة ببطيء خلال العمود بتيار من النتروجين	لا يوجد	٣ دفعات كل منها ١ ملل من الميثانول/أستون(٣: ٢)والتركيز للحجم المطلوب
	Triazines	C18 ec/3ml/500mg	٥مل ميثانول ثم ٥مل ماء مقطر	يمرر لتر عينة خلال فلتر glass fiber وتحمض ب٢مل حمضHCl ثم تسحب ببطيء للعمود	٢مل اسيتونتريك/ماء (٧:٣) ويجفف لمدة ٢٠ق تحت ضغط	٢٠مل استيونزيل ويركز المزاج بالمبخر الدوار الى الحجم المناسب
	Organo chlorine pesticides	C18 ec/3ml/500mg	٦مل ميثانول ثم ٦مل ماء	يضبط PH العينة على ٧ وتمرر ببطيء على العمود	دفعتين من الماء كل منها٠,٥ ملل ويجفف العمود لمدة ١٠ق	دفعتين من الهكسان العادى/مثيلين كلوريد (٧: ٣) كلا ٥. مل
تابع العينات المائية	Alachlor, atragine, metolacholr	C/8 ec/3ml/500mg	٢مل أيسوأوكتان/خلات إيثايل(٩: ١) ثم ٦مل ميثانول ثم ٦مل ماء تحت ضغط (٣مل/ق)	ترشح العينة وتمرر ببطيء خلال العمود بمعدل (٦مل/ق)	٦مل ماء وجفاف العمود تحت ضغط	٢مل أيسوأوكتان/خلات إيثايل (٩: ١)

تابع جدول رقم (٢-١٠)

	P,P-DDE, O,P-DDE, O,P-DDT,P,P-DDT,dreldrin, endosulfan (I&II ،(endrin	C/8 ec/6ml/500mg	١٢مل خلات الايثايل ثم ٦مل ميثانول ثم ٦مل ماء مقطر	ترشح العينة ثم تطبق ببطئ على العمود	٦مل ماء مقطر وجفاف العمود لمدة ١٥ ق تحت ضغط	دفعتين من خلال الايثال لكلا ٠,٥مل ثم يركز المزاج الى حجم نهائى ٢٥٠ ميكروليتر باستخدام تيار النيتروجين على درجة ٤٠/ للتنقية الثانية
	Heptachlor, heptachlorepoxide, lindane, P,P. methoxychlor	SIOH /6ml/1000mg	٢. مل ماء ثم ١٠مل هكسان عادى	يخلط(٢٥٠ميكروليتر) من مركز عمود ؤ١٨ مع ١مل هكسان وتطبق العينة على عمود SIOH ببطئ ويجمع المزاج	لا يوجد	إزاحة ب١٠مل هكسان عادى ويجمع ثم الازاحة ب١٠مل بنزين/هكسان (٦: ٤) وتجمع هذه الأجزاء وتحلل
	Chlorophenoxy carboxylic acids	C/8 ec/3ml/500mg	٣مل هكسان عادي ثم ٣مل ميثانول ثم ٣مل ماء محمض بـ HCL pH_2)	يضبط٥٠٠مل من العينة على pH2 باستخدام HCL ثم ٥مل ميثانول ثم تطبق العينة ببطئ على العمود ويجفف /١٥ق باستخدام مضخة ضغط	١مل هكسان عادى ثم ينشط/٢ق ثم غسل بالـهيدروكربونات المكلورة ب١مل هكسان ويجفف العمود تحت ضغط	١مل ميثانول يمرر ببطئ خلال العمود ثم الانتظار لمدة ٢ق ثم الغسيل مرة اخرى بـ ١مل ميثانول
	Rodenticide warfarin	C/8 ec/6ml/200mg	٥مل استيونزيل ثم ٥مل PH ٤,٣	يضبط لتر من العينة على pH4.3 بحمض الخليك وتطبق العينة ببطئ عمود	٢٠مل أستيونتريل / ماء PH:4.3 (١: ٤)	١مل أسيتونتريل/محلول منظم فوسفات PH 7.4 (١:١)
	Aromatic hydrocarbons monochloro nitrobenzane	C/8ec/6ml/500mg	١٢مل ميثانول ثم ٦مل ماء مقطر	تمرر العينة على العمود بمعدل ٥-٦ مل/دقيقة	٦مل ماء مقطر	٤دفعات من الهكسان العادى كلا ٥٠٠ ميكروليتر
	Aromatic hydrocarbons (helogenated anilines(	C/8 ec/6ml/3g (special(	٨مل استيون ثم مرر تيار من النيتروجين بمعدل (٨٠-٩٠مل\ ثانية) لمدة ٣٨ق ثم اضف ٣مل ميثانول ثم ٨مل ماء	يضبط لتر عينة على pH (٩) ب NaOH ويرشح ويضاف٣٥٠ جم كلوريد الصوديوم وتمرر ببطئ خلال العمود/٣ ساعات يجفف العمود بالنيتروجين ٨٠-٩٠مل/ث/ ٣٠ ق	لا يوجد	٦مل خلات الايثايل ويركز المزاج باستخدام تيار النيتروجين الى الحجم المناسب للتقدير

تابع جدول رقم (٢-١٠)

	Aromatic hydrocarbons (naphthols & nitroaromatics	HR-P/3ml/200mg	دفعتين من الميثانول كل منها ٣مل ثم ٣مل من ماء المقطر	تضبط عينة ماء على pH2 بحمض HCL مخفف ثم تمرر لتر عينة ذات pH 2 ببطئ للعمود	لا يوجد	٣ دفعات من الاسيتونتريل/ ميثانول (١:١) كل منها ١مل
	Aromatic hydrocarbons (phenols(	HR-P/3ml/200mg	دفعتين من THF كلا ٣مل ثم ٣مل من الماء المقطر	يضبط لتر عينة ماء pH2 بحمض مخفف وتمرر العينة ببطئ خلال العمود	لا يوجد	٣ دفعات من THF كل منها ١مل وتركز لحجم نهائى ١ملل بتيار من النيتروجين
	٢- معادن ثقيلة BI, CD, CO, CU, FE, HG, MN, MO, NI, PB, TI	Phenyl/3ml/500mg	٣مل من الميثانول ثم ٣مل ماء	يضبط ٥٠٠مل عينة على pH8-9 ب ١ملل محلول صوديوم داى إيثيل داى ثيوكربياميت ٠,١ % وتمرر العينة ببطئ للعمود	٢مل ماء مقطر ويجفف العمود باستخدام مضخة لمدة ٣-٤ق	٦مل ميثانول
	Al,Cd, CO,Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn.	C/8ec/3ml/500mg	٦مل ميثانول ثم ٦مل ماء مقطر ضبط PH لفة على (٨,٥) باستخدام الامونيا	يضاف ١,٠مل ٥% هيدروكس كينولين فى ٠,٥ مولر HCL إلى ٢٥٠مل عينة ثم يضبط pH8.5 بمحلول أمونيا وتمرر ببطئ للعمود	باستخدام دفعتين من الماء PH (٨,٥) كلا ٥٠٠ ميكروليتر ثم يجفف العمود باستخدام مضخة لمدة ٣-٤ق	دفعتين من الميثانول كلا ٧٥٠ ميكروليتر
١-العينات المائية أ-ماء البحار، المحيطات، الانهار، الترع، المصارف	AL, Be, Cu, Cr(VI), Mo(VI), V(V)	NH2/3ml/500mg	٦مل حمض نيتريك ١ع ثم ٦مل ماء مقطر	ضف ٥ مل ٠,٠٠١% alizarin sulphonic إلى ١٠٠مل عينة ويضبط pH5.5 بحمض خليك و تطبق العينة ببطئ للعمود	٢ملماء مقطر ويجفف العمود تحت ضغط لمدة ٤ق	٦مل من حمض النيتريك ٢ع
٤- هواء ٥-الخضروات والفاكهة	Plasticizers phthalates	C/8 ec/3ml/500mg glass	٦مل ميثانول ثم ٦مل ماء	تمرر العينة حتى ١ لتر ببطئ على العمود	٦ملل ماء ويجفف العمود تحت ضغط/٥ق	١مل خلات إثايل
-الموالح -الانسجة النباتية -الخضروات الزيتيه -الانسجة الورقية	Thiocyanate	SB(=SAX) /3ml/ 500mg	٣مل ماء مقطر	يضبط pH7 للعيناتويمرر ٢٠مل ببطئ للعمود/٥ق	٦ مل ماء مقطر	دفعتين من حمض الهيدروكلوريك ٦ ع كلا ١مل

تابع جدول رقم (٢-١٠)

	Phenoxycarboxylic acid,2.4-Dichlorophenoxyacetic acid 2,4,5-tri. Acid propionic acid	C/8 ec/6ml/500mg	١٢مل ميثانول ثم ١٢ مل ماء محمض (٠,٢ مل حمض HCl مركز/٢٥٠ مل ماء)	يضبط pH2 ل٢٥٠ ملل عينة باستخدام ٢,٠مل HCl مركز ثم تمرر العينة ببطئ خلال العمود	١مل من الماء المحمض السابق ثم يجفف العمود/١٠ق باستخدام مضخه	دفعتين من الميثانول او الاسيتون كلا ٥٠٠ ميكروليتر
	pp-DDD,pp-DDE,pp-DDT. Aldrin B-BHC Endosulfom, BHC,S-BHC, Heptachlor, Hept.epoxide, methoxychlor	C8/6ml/500mg	دفعتين من الميثانول كلا ٣مل ثم ٢مل ماء مقطر	يطبق ١٠٠مل ماء شرب ببطئ على العمود	١مل ماء مقطر ويجفف العمود لمدة ٥ق تحت ضغط	دفعتين من الهكسان العادى/ ايثر (٥٠/٥٠) كل منها ٥٠٠ ميكروليتر
	-Fungicides -iprodione-procymidone -clozolin etc	C/8/3ml/500mg	٣مل هكسان عادى ثم ٣مل ميثيلين كلوريد ثم ٣مل ميثانول ثم ١٠مل ماء مقطر	يطبق لتر ماء الشرب ببطئ على العمود/٥-٨مل/ق ثم يجفف العمود/٣٠ د تحت ضغط	دفعتين من الهكسان العادى كلا ١مل ثم يجفف ثانية لمدة ١٥ق	دفعتين من الميثلين كلوريد كلا ١مل ببطئ على العمود
	Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)	CN/SIOH, 6ml/500/1000mg	٤مل بتروليم ايثر	جفف ٣٠جم تربةبكبريتات صوديوم لامائية وتستخلص بسوكسلت ٥٠ مل بتروليم ايثر/٤ س وتركز ل٢٠مل بالمبخر الدوار وتطبق ببطئ	٢مل بتروليم ايثر	دفعتين من الاسيتونزيل /بنزين (٣: ١) كلا ٢مل ثم يبخر السائل المزاب للحجم المطلوب مرفق معدلات الاسترجاع (جدول٢-)
	-PAH -PCB poly chlorinated biphnyl	C/8 ec/3ml/500mg	٣مل (٢-بروبانول) ثم ٣مل (ماء مقطر -٢ بروبانول) (٨٥: ١٥)	يمزج ٥حجم عينة مع٣٠مل ٢-بروبانول ويرشح ويكمل لحجم ٢٥٠مل بالماء وتمرر العينة ببطئ لعمود	دفعتين من الماء /٢ بروبانول (٨٥: ١٥) كلا ١مل ويجفف العمود/٥ق بمضخة	دفعتين من الميثلين كلوريد كلا ٥٠٠ ميكرولتر

تابع جدول رقم (١-١) :

	Herbieide 5 -triazine	SA(=SCX)/3ml /500mg	٣مل حمض خليك (١%) ثم ٢مل حمض خليك (١%) وضع كاس تحت العمود	علق ١٠٠جم تربة في ٩٩مل أستيونتريل/ماء (٩: ١) وضف ١ مل (٠,٢مجم/مل بروميترين) والرج/٥ق برشح يهمل أول ٥مل ويستخدم ١مل التي تليهم و٢٥مل حمض خليك ١%ويضاف ٥مل عينة وتمرر ببطئ للعمود	١مل استيونزيل ثم ٣مل ماء ثم ١مل داى بوتاسيوم هيدروجين فوسفات ٠,١ مولي وبين اضافات الغسيل جفف العمود جيدا لمدة ١٥ث تحت ضغط	٢مل استيونزيل/داى بوتاسيوم هيدروجين فوسفات ٠,١ مولر (١:١)
	Organochlorine pesticides	C/8 ec/3ml/500mg	٦مل ميثانول ثم ٦مل ماء	١٠حجم تربة مع ٥٠مل ميثانول ورشح ثم ياخذ ٢٥مل من المترشح ويكمل بالماء الى مجم ٢لتر ويضبط حا على (٧) ثم تطبق العينة ببطئ على العمود	دفعتين من الماء كلا ٠,٥ مل ثم يجفف العمود لمدة ١٠ق تحت ضغط	دفعتين من الهكسان العادى/ ميثلين كلوريد (٧: ٣) كلا ٠,٥مل

الباب الثالث

الفصل الكروماتوجرافى

الكروماتوجرافي تكنيك أكتشفه العالم الروسى (Tswett) لفصل مخلـــوط صبغات نباتية فى صورة مناطق ملونة (Colored zones : bands) نتيجة حركتها لأسفل من خلال أمرارها خلال عمود يحتوى على حبيبات مادة مدمصـــة (Adsorbed material) بمعدلات حركة مختلفة حيث تتم بتوزيع مكونات مخلـوط العينة بين نظامين احداهما يسمى بالطور أو النظـــام الثـــابت : Immobile (Stationary phase) ويمتثل فى أحدى المواد المدمصة والمتميزة بدقة حبيباتـــها والتى تقود لزيادة مساحة مسطحها الخارجى بدرجة كبيرة حيـــث تحجـــز أو تدمص عليها بعض مكونات المخلوط بقوى مختلفة أي بســعات أدمصـــاص مختلفة بينما تمر باقى المكونات بدون أدمصـــاص مـــع الطـــور أو النظـــام المتحرك (Mobile : Un-Stationary phase) والذى يدفع أمامه جزئيات المكـــون أو المكونات التى لم تدمص أى أن عملية الفصل (تنقية) ترجـــع لإختـــلاف معدل سرعة هجرة الجزيئات بين نظامى الفصل .

وتتوقف درجة الإدمصاص هنا على قوة ونوعية الشـــحنات الموزعـــة على أسطح حبيبات مادة الإدمصاص فعلى سبيل المثال مســـحوق الفحـــم ذو الروابط الزوجية الغير مشبعة يجذب له الجزيئات غير المستقطبة وهـــو مـــا يعزى إلية قوة أدمصاص كبريتيد الهيدروجين (H_2S) المستقطب على الفحم .

وعلية فعملية الكروماتوجرافى هى إحدى طـــرق الفصـــل (Separation) لمكون ما فى مخلوط من عدة مكونات أو متبقيات مركب سام أو ملوث بيئـــي عن المواد المتداخلة معه (Interference) كما أنها تعد طريقـــة عاليـــة الدقـــة والتخصص كعملية تنقية .

ولقد طور Martin & Syrege ١٩٤١ عملية الفصل حيث أســـتبدل الوســـط الصلب المدمص أو الممـــتز (Solid adsorption) بوســـط ســـائل وســـميت بكرومـــاتوجرافى التجـــزيء ســـائل : ســـائل Liquid-liquid partition (Chromatography) حيث تتجزأ مكونات المخلوط بالعينة بين طورين ســـائلين معتمداً فى ذلك على قابلية ذوبانهما .

ثم تطـــورت الفكـــرة بأســـتخدام كرومـــاتوجرافى الــــورق (Paper Chromatography) وذلك بالفصل على ورق ترشيح حينذاك وهـــو مـــا أدى لظهور إستخدام كروماتوجرافى التفريد اللونـــى الدقيـــق (Thin Layer Chromatography) حيث يتم فصل مكونات المخلوط على طبقة مدمصه مسـندة للوح الزجاجي .

وتتعدد طرق الفصل والتعريف والتقدير المستخدمة فى التحليل الكيميـائى بغرض فصل مكون ما عن باقى مكونات مخلوط عينة ما سواء آ كان هـــذا المخلوط متجانس أو غير متجانس لعينة كيميائية أو بيولوجيـــة حيوانيـــة أو نباتية أو بشرية .

ويعتمد الأساس النظرى المبنى عليها فكرة التحليل على أساس إتزانـــات منفصلة أو متصلة وذلك متوقفاً على الصفات الطبيعية أو الكيميائية للمكـــون المراد فصلة عن باقى مكونات مخلوط العينة . فحركة المكون المفصول بيـن الطور المتحرك مرة والطور الساكن مرة أخرى وعملية تكرارهـا المســتمر يتم نتيجة حدوث عدد كبير من التوازنات بين الطورين المتحـرك والثـابت وهو ما يعبر عنه بمعامل التوزيع التجزيئي (Partition Coefficient : K) وهـــو يساوى تركيز المذاب في الطور الثابت (Cs) مقسوما على تركيز المذاب فـى الطور المتحرك (Cm) أى أن : K =(Cs) / (Cm) .

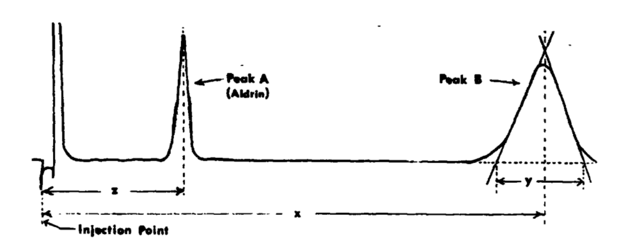
وعندما تكون قيم معامل التجزيئى و تركـيز المـذاب بكـل الطوريـن السابقين على الترتيب (Cs) (Cm) مرتبطين ببعض إرتباطاً خطيـا نحصـل على منحنى خطى للإزاحة(Linear Elution curve) وهنا يكون معـدل حركـة المكون خلال العمود متناسبة مع الزمن المنقضى له بين كل من الطورين :

- فإذا كانت قيمة معامل التجزيئى عالية فإن المكـون يفضـل الطـور الثابت .
- فإذا كانت قيمة معامل التجزيئى منخفضة فإن المكون يفضل الطـور المتحرك وتكون حركته لأسفل خلال العمود سريعة وكلما كانت المســافة (الزمن) بين المركبات المفصولة أكبر كلما زادت درجة الفصل جـودة حيث تزداد درجة الفصل بزيادة الأتساع (Broader) وهو ما يتأتى بزيـادة طول العمود حيث أشارا بأن العمود مقسم لعدد من الصفـائح النظريـة

(Theoretical plates) يحدث فى كل منها عمليـــة تــوازن بيــن المكــون والطورين الساكن والمتحرك وتزداد كفاءة الفصـــل كلمـــا زادت عـــدد الصفائح النظرية(N) حيث يمكن تقدير عدد الصفائح (N) مـــن أتســـاع الحزمة (Band width : W) وزمن الحبس (t_r) وحجم الحبس (V_r) لـــهذه الحزمة :

عدد الصفائح(N) =مربع زمن الحبس (t_r^2) / مربع الإنحراف المعيارى للمنحنى .

$$= (t_r^2) / \delta^2 = 16(t_r^2) / W^2 = 5.54\ (t_r^2) / (W^2_{1/2})$$



ولطالما أن أحسن كفاءة للفصل بالعمود تكون عند زيادة طـــول العمـــود (L) وحيث أن : $L/N = h$

إذن $Nh = L$

حيث أن H هي (High equivalent Theoretical plates : HETP) والتـــى ترتبط بطول العمود ومادة الإدمصاص بالعمود وعدد الصفائح النظرية .

ولقد استبدلت نظرية الصفائح النظرية بنظرية المعدل (Rate theory) حيث افترضت نظرية الصفائح النظرية ثبات معامل التوزيع التجزيئي (K) مـــع تباين تركيز المكون المفصول وهو افـــتراض غـــير مقبـــول مـــع نظريـــة الأدمصاص حيث تكون مواقع الإدمصاص مزدحمة كثيراً كذلك أفتراضـــها لتوازن سريع لمكون المذاب وطورى الفصل والذى يكتب خطأ عن اســـتخدام

معدلات عالية من سرعة انتقال الطور المتحرك الذى أدى لكفاءة فصل أقـــل حيث قيمة عدد الصفائح (N) منخفضة وعلية فالإنتشار من صفيحة لصفيحة أخرى تنتج عنه ذروات انتشار (Peak spreading) أى أن الانتشـــار الطولـــى (Longitudinal diffusion) الذى لم يأخذه فى الحسبان كذلك لـــم تـــأخذ ســـرعة الطور المتحرك فى الحسبان .

فنظرية المعدل والتى درست الديناميكيـــة أثنـــاء الوصـــف والمتضمنـــة للانتشار الطولي (Longitudinal diffusion) و الدوامى (Eddy diffusion) وفسرت إتساع الحزم وتأثير شكل الحزمة علي معدل إزاحة المسارات المتغيرة غـــير المنتظمة والتي يشكلها المذاب خلال حبيبات مادة حشو العمود حيـــث تتســـع حزمة المذاب بالوقت والمسافة المتحركة خلال العمود .

ولقد أخذ Van deemeter العوامل السابقة في الإعتبار في معادلته التالية :

أعلي مكافئ للصفائح النظرية=(High equivalent Theoretical plates : HETP)

$$Cu + B/u + A =$$

و أنتشار المذاب بمساحات عشوائية غير منتظمة بجـــانب الانتشـــار الدوامى (الإلتفافى) .

والعامل(A) : يظهر من تعدد المسارات داخل العمود نتيجة عدم الإنتظام فى ملء العمود وعدم التماثل بقطر جزيئات المادة المالئة بالعمود. وهو يعنى انتشار المذاب المستمر للحواف الأمامية والخلفية .

والعامل(B/u) : ويظهر نتيجة عدم انتظام مسارات الانتشار خلال المادة المالئة ــ السرعة المستقيمة للغاز الخامل ــ معامل الانتشار للمذاب خلال الطور الغازى .

والعامل(Cu): وهو يعنى عدم الإتزان فى نقل الكتلة وله علاقة بالغاز حيث يزداد بزيادة سرعة تحريك الطور المتحرك الفعال ومعامل الإنتشار للمذاب خلال الطور الثابت .

والكروماتوجرافى إحدى طرق فصل (Separation) وتعريف (Identification : Qualitative) وتقدير (Determination : Quantitative) مكون ما فى مخلوط لعدة مكونات لعينة ما أو مع مواد متداخلة معه أو ممثل (Metabolite) أو متبقيات (Residues) في إحدى مكونات النظام البيئي كالمياه بأنواعها والتربة والترسبات والهواء والكتلة الحية (Biomass) كعينة بيولوجية سواء أكانت حيوانية أو بشرية أو نباتية .

وتتم عملية الفصل (Separation) والتى ترجع لاختلاف توزيع (Distribution) وسرعة هجرة (Migration) مكونات المخلوط ككل بين نظامى أو طورى الفصل وهما :

النظام أو الطور الثابت : ويمتثل فى إحدى المواد المدمصة والمتميزة بدقة حجم حبيباتها وبالتالى كبر مساحة سطحها الخارجى فتحجز وتدمص إحدى مكونات المخلوط المراد فصلها عن باقى مخلوط العينة بقوة تسمى بسعة الإدمصاص (Adsorption capacity) بينما تمر المكونات الأخرى للمخلوط بدون إدمصاص مع النظام أو الطور المتحرك حيث تتوقف درجة أو سعة الإدمصاص على قوة ونوعية الشحنات الموزعة على سطح حبيبات مادة الإدمصاص فمسحوق الفحم ذو الروابط الزوجية يجذب إليه الجزيئات الغير مستقطبة وهو ما يعزى إلية قوة إدمصاص الجزيئات المستقطبة مثل كبريتيد الهيدروجين .

النظام أو الطور المتحرك :والذى يدفع أمامه جزيئات المكون أو المكونات التى لم تدمص على حبيبات مادة الإدمصاص .

ويقسم الكروماتوجرافى عموماً على أساس القوى المؤثرة على الجزىء مثل قوة الشد وقوة المقاومة إلى :

١-كروماتوجرافى التجزيىء (Partition chromatography) :

وهنا يتم فصل مكونات المخلوط بين مذيبين لا يمتزجان معاً حيث يذوب إحدى المركبين فى مذيب ويذوب المركب الأخر فى المذيب الثانى وهو ما يسمى بكروماتوجرافي التجزيء السائل (Liquid Partition chromatography)

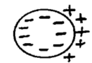
٢-كروماتوجرافى الإدمصاص (Adsorption chromatography):

حيث يخضع فصل مكونات المخلوط لقـوة إدمصـاص جزيئاتـه علـى جزيئات المادة المدمصة وهو ما يسمى بالأعمدة الكروماتوجرافيـة (Column chromatography) .

٣-التبادل الأيونى (Ione exchange) :

وهو إما :

٣-١-تبادل أيونى موجب(Cation exchange) : حيث يحمل سـطح حبيبـات مادته المدمصة :مبادل شحنة سالبة و تدمص على سطحها أيونات موجبة .



٣-٢-تبادل أيونى سالب (Anion exchange) : حيث يحمل سطح حبيبات مادته المدمصة شحنة موجبة و تدمص على سطحها أيونات سالبة .

جدول رقم (٣-١) : أنواع طرق الفصل الكروماتوجرافى تبعاً لنوعية كل من الطور الثابت والمتحرك :

الطور الثابت	الطور المتحرك	نوع طريقة الفصل الكروماتوجرافى الناجمة عها
صلب	سائل	مثـل الأدمصـاص (الأمـتزاز) :Liquid Solid Chromatography التبادل الأيونى (Ione exchange)
سائل	سائل	مثـل التجزئـى كرومـاتوجرافي Liquid- liquid Chromatography
صلب	غاز	Gas Solid Chromatography
سائل	غاز	Gas- liquid Chromatography

ويشير الجدول التالى رقم (٣-٢) إلي طبيعة كل من الطـور الثـابت والطور المتحرك فى الأنواع المختلفة للكروماتوجرافي.

جدول رقم (٣-٢) : أنواع الكروماتوجرافي تبعاً لنوع طوري الفصل

نوع الكروماتوجرافى الطور	كروماتوجرافى في التجزئة بالعمود	كروماتوجرافى التجزئة بالورق	كروماتوجرافى التفريد بالطبقة الرقيقة	كروماتوجرافى غازى	كروماتوجرافى غازى سائل	إلكترو- فوريسيس
طور ثابت	دعامة صلبة: مادة إدمصاص معبأة بأعمدة كروماتوجرافية	دعامة صلبة حيث تكون مادة الادمصاص فى صورة ورق سليلوز ذو درجات مسامية ونقاوة مختلفة	دعامة صلبة حيث تكون مادة الإدمصاص فى صورة مفرودة على ألواح زجاج أو أنواع من البلاستك ويسمك مختلف تبعا للطريقة	دعامة صلبة حيث تكون مادة الإدمصاص معبأة بأعمدة . كروماتوجرافية زجاجية أو معدنية وبأشكال يختلف حسب تصميم الجهاز وبأطوال مختلفة	دعامة صلبة : مادة الإدمصاص تعامل قبل تعبئتها بأنظمة سائلة غالبا ما تكون مركبات سيليكون فتحاط الحبيبة بفيلم رقيق منه وتعمل كوحدة مستقلة	حيث تشكل المادة المدمصة بشكل أعمدة أو رقائق حسب نوعية الجهاز
طور متحرك	مذيب سائل أو مخلوط من عدة مذيبات مختلفة ليعطى نسب مختلفة من القطبية ينساب خلال جزيئات المادة المدمصة بداخل العمود من أعلى لأسفل	مذيب سائل أو مخلوط من عدة مذيبات مختلفة ليعطى نسب مختلفة القطبية . يتحرك من أسفل لأعلى بالخاصة الشعرية و القوى السطحية ضد الجاذبية الأرضية أو من أعلى لأسفل مع الجاذبية	مذيب سائل أو مخلوط من عدة مذيبات مختلفة ليعطى نسب مختلفة من القطبية . يتحرك السائل بالخاصة الشعرية لطبقة الادمصاص المفرودة على الألواح الزجاجية من أعلى لأسفل	غاز يتدفق أو يندفع خلال الأعمدة وتحدة جدران الأعمدة	غاز يتدفق أو يندفع خلال الاعمدة وتحدة جدرانها	تحدث هجرة للمكونات بمساعدة سائل وتيار كهربى

كما يوضح الجدول التالى (٣-٣) أهم طرق الفصل المستخدمة لفصل خليط من مكونات أو متبقيات السموم وأساسيات الفصل التى بنى عليها فكرة هذه الطريقة

جدول رقم (٣-٣): طرق الفصل المستخدمة وأساس فكرة طريقة الفصل

الطريقة	يبني فكرة الفصل بالطريقة علي أساس
الترسيب	اختلاف مكونات المخلوط فى معدل الذوبان .
الترسيب الكهربى	اختلاف مكونات المخلوط فى شحناتها الكهربية فتنفصل عند أقطاب كهربية: كاثود آنود
الترشيح	اختلاف مكونات المخلوط فى حجم حبيبات كل مكون وهنا تختلف حجم ثقوب أداه الترشيح تبعا لمدى أحجام حبيبات مكونات المخلوط .
الدياليس	اختلاف مكونات المخلوط على الانتشار الغشائى للمكون المرغوب فصلة من المخلوط بانتشاره غشائيا من خلال غشاء معين
التقطير	اختلاف مكونات المخلوط فى معدل التطاير .
التسامى	اختلاف مكونات المخلوط فى الضغط البخارى .
الأستخلاص	اختلاف مكونات المخلوط معدل ذوبان المكون المطلوب بين طورى فصل .
البلورة	اختلاف مكونات المخلوط معدل ذوبان مكون ما عند درجة حرارة أقل أو أعلى
التعويم	اختلاف مكونات فى معدل الكثافة بين المكون المفصول عن باقى المكونات .
كوماتوجرافى التجزئة:	
بالعمود	اختلاف مكونات حيث يتم توزيع المكون (المذاب) بين طورى فصل (صلب وسائل)
بالورق	حيث يتم توزيع المكون (المذاب) بين طوى فصل (ورق ــ سائل) .
بالتفريد بالطبقة الرقيقة	حيث يتم توزيع المكون (المذاب) بين طوى فصل :مادة أدمصاص يتم فردها على شرائح بلاستك أو زجاج بصورة طبقة (فيلم رقيق)مع الطور السائل .
بالتبادل الأيونى	اختلاف أدمصاصهاعلى مبدل كاتيونى أو أنيونى ثم يتم بعد ذلك نزع المادة المرغوبة بمذيب معين .
بالكروماتوجرافى الغازى	أختلاف فى معدل أنتشارها بين طورين أحدهما صلب (مادة الأدمصاص بالعمود) والآخر غازى (كروماتوجرافى الغازى) .
بالكروماتوجرافى السائل	اختلاف فى معمل انتشار بين طورين أحدهما صلب وتغطى حبيباته بمادة سائله كمركب السيكلون والآخر غازى (كروماتوجرافى الغازى السائل) .
الأليكتروفورسيس إستشراد كهربى	اختلاف فى شحناتها حيث تفصل المكونات على جيل (عمود ــ رقائق) بمساعدة التيار الكهربى لسرعة الفصل .

وبعد هذا الأستعراض المبسط للطرق المختلفة للفصل الكروماتوجرافى سوف يتم تناول هذه الطرق وتطبيقاتها العملية فى فصل السموم والملوثات البيئية بشيء من التفاصيل سواء أكان :

- كروماتوجرافى التجزئة بالعمود .
- كروماتوجرافى التجزئة بالورق .
- كروماتوجرافى التفريد بالطبقة الرقيقة .
- كروماتوجرافى الحمل الكهربى .
- كروماتوجرافى الغازى .
- كروماتوجرافى الغازى السائل .
- كروماتوجرافى السائل فائق الاداء .

١-كروماتوجرافى الأعمدة (Column Chromatography)

إحدى طرق الكروماتوجرافى السابقة لفصل ملوث ما من مخلوط لعدة مكونات متداخلة فى العينة المأخوذة حيث يكون الفصل فى صورة مناطق منفصلة (Zones) على مادة الإدمصاص التى تمتلك درجة معينة من القطبية والمعبأ بها العمود والتى لها قدرة على مسك متبقيات المركب وكذا المواد المتداخلة حيث يتركز كل مكون تبعا لشحنته وقطبيته ووزنة الجزيئى عند مرور جزيئاته بين نظامى الفصل :

- الطور الثابت(Stationary :Immobile phase): وهى مادة الأدمصاص التى تم حشو العمود بها وبطريقة منتظمة ومتجانسة .
- الطور المتحرك(Un-Stationary :Mobile phase): سواء أكان مذيب مناسب أو مخلوط من عدة مذيبات تختلف فى درجة قطبيها والذى يطلق علية مخلوط الإزاحة (Eluting mixture) حيث يقوم بإزاحة المركب المتمركز بمنطقة معينة فعندما ينساب ويمر) الوسط المتحرك خلال حبيبات الوسط الثابت فى خطوات كونتورية(Differential contour current).

تتوزع جزيئات كل مكون على حدة بين النظامين تبعاً لقوة التميز الخاصة بالأدمصاص(Differential manner) .

وعند ملامسة جزيئات المكون لسطح مادة الإدمصاص تبدأ فى التميز وتمر من المحلول لسطح مادة الإدمصاص وتبقى فترة زمنية طويلة أو قصيرة تبعاً لقوة إدمصاصها حيث يتقدم المذيب حاملاً معه جزيئات المكون فترتبط بطبقة جديدة من مادة الإدمصاص لم تشغل من قبل (Unocupied layer) ويلاحظ أنه بزيادة تركيز المكون المدمص على سطح مادة الإدمصاص فأن المحلول يصبح كاره أو طارد للإدمصاص حيث تحدث فى نفس الوقت عملية عكسية وهى اللا إدمصاص (Desorption) حيث تهرب بعض جزيئات المكون من على سطح مادة الإمصاص للطور المتحرك مرة أحرى وتدمص جزيئات أخرى مكانها وهكذا حتى تنشأ حالة اتزان عكسية (Reversible equilibrium) بين الطور المتحرك والثابت .

ويلاحظ أن المذيبات المستخدمة فى هذا النظام أما :

- مذيبات قطبية (Polar solvents) : وتستخدم مع مادة إدمصاص غير قطبية وذلك لفصل المكونات الغير قطبية . ومن أمثله مواد الإدمصاص الغير قطبية كبريتات الكالسيوم وسليكات الكالسيوم وتراب فوللر .

- مذيبات غير قطبية(Non-Polar solvents): وتستخدم مع مادة إدمصاص قطبية لفصل المركبات القطبية . ومن أمثلة مواد الإدمصاص القطبية أكسيد الألومنيوم وأكسيد المغنسيوم وحمض السليسيك والفحم .

وقد يدمص على الوسط الثابت :مادة الحشو كالسليت والسبكاجيل والفلورسيل والسليلوز والتراب الكفرى سائل يكون بمثابة حامل (Carrier) مثل حمض السيليسيك و (Kipselgm)

أيضا قد يبلل العمود قبل إستخدامة (Pre wet) وهنا يصبح كحامل مستقطب ويحدث الفصل بين جزيئات الماء المستقطبة والمرتبطة بمادة الأدمصاص وبين المذيب المتدفق وهى تسمى الطريقة بطريقة التجزيء الكروماتوجرافى سائل ـــ سائل (Liquid-liquid chromatography).

ميكانيكية هجرة المكون على العمود (Migration mechanism) :

عند النظر لحركة جزيء مركب خلال حبيبات مادة الإدمصاص المعبأ بها عمود كروماتوجرافى نجد أنة فى لحظة معينة تكون ثابت فى مكانة على مادة الأدمصاص فى لحظة أو وقت لاحق يكون متحرك والتغير بين الثبات والحركة سريع :

ففى الفترات الأولى من وقت الأدمصاص (Time of adsorption : T a) تكون حركة الجزيء لأسفل متوقفة أما بالفترة التى تليها تكون حركة الجزيء مساوية لحركة المذيب (Time of de-sorption : T d) :

وعلية تكون سرعة هجرة الجزيء (R) :

$$Vm+ KVs / Vm = Cm\ Vm + Cs\ Vs\ / Cm\ Vm = td + ta / td = (R)$$

وذلك لأن $Cm / Cs = K$

حيث أن : R : قيمة سرعة هجرة الجزيء

K : أيزوثرم الإمتصاص

T a : قيمة حركة الجزيء

T d : قيمة حركة الجزيء لأسفل

: Cm

: Cs

:Vm

:Vs

ويلاحظ أن ارتفاع درجة الحرارة يزيد سرعة هجرة الجزيئات فلها علاقة عكسية مع كل من K , R فتزيد قيمة سرعة هجرة الجزيئات وهذا ما يتضح من التفاعلات الطاردة للحرارة (Exothermic reactions) :

وبما أن أيزوثرم الإدمصاص (K)

= [الكمية الممصة / وحدة الإدمصاص (Xa)] / تركيز المركب بالنظام المتحرك

وعلية يكون معدل السريان (Rate of flow : R_f)

= وزن مادة الإدمصاص بالجم(W)×سرعة هجرة الجزئى(R)×حجم السائل المتحرك (V)

ونجد أن هجرة المكون على العمود له علاقة درجة التفضيل أو الموائمة (Affinity) وهى تمثل قدرة أو علاقة المكون مع مادة الإدمصاص حيث إذا كانت درجة التفصيل للمادة أكثر مع الوسط الثابت تكون سرعة هذه المادة على العمود أقل من المكونات الأخرى الموجودة بمخلوط العينة والتى تكون درجة التفصيل لها أقل من المادة الأولى وعندما نقول أن درجة التفضيل لمادة ما أكبر مع أحد النظامين فهذا معناه أن درجة التفضيل لها مع النظام الأخر يكون أقل وإذا كانت درجة التفضيل لها متساوية مع الوسطين نجد أنه فى النهاية تكون هذه المادة فى منتصف العمود .

وتقاس درجة التفضيل لمركب ما من المعادلة التالية من خلال معامل التوزيع :

معامل التوزيع (Distribution Coefficient : K d)
= تركيز المكون بالنظام المتحرك ÷ تركيز المكون فى النظام الثابت .

أما معامل التوزيع الفعال (Active Distribution Coefficient : B)
= تركيز المكون الكلى بالنظام المتحرك ÷ تركيز المكون الكلى فى النظام الثابت

عند تساوى الحجم فإن قيمة **K d = B :**

$$Vs / Vm = K d = B$$

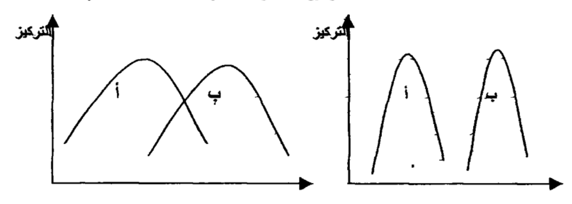
- فإذا كانت قيمة **K d = ١** **فإن جزيئات المكون تتوزع بالتساوى بين النظامين وتتركز فى منتصف العمود .**
- فإذا كانت قيمة **K d > ١** **فإن جزيئات المكون تتركز معاً وتكون حركتها كبيرة لأسفل .**
- فإذا كانت قيمة **K d < ١** **فإن جزيئات المكون تتركز معاً وتكون حركتها قليلة فى المنتصف العلوى من العمود .**

الوضع النسبى لمناطق الإنفصال على العمود (Relative potions of zones)

يتأتى الوضع النسبى للمناطق المفصولة على العمود بالتركيب الطبيعى والكيميائى لمادة الإدمصاص والمركب المفصول وطبيعة المذيب علاوة على تركيز المركب المراد فصلة .

وعموما يتوقف الوضع النسبى لجزيئات مركب ما بالعمود على :
١-تركيز المكون : فيجب أن يكون التركيز منخفض حتى يتسنى إنتشار جزيئاته (أيوناته) فى السائل حتى لا يحدث تتداخل بينه وبين المكونات الاخرى . فكلما زاد تركيز المكون المراد فصلة زادت قوة الإدمصاص حتى حد معين بعده تترك مادة الادمصاص لزيادة تركيزها عن قدرة سعة (كفاءة) مادة الإدمصاص على الإحتفاظ بهذه الجزيئات وهنا يكون أيزوثرم الأدمصاص محدب (Concave) ويعبر عنة بكمية المكون / وحدة الطول من العمود .

إذن التركيز النسبى للمركب (Relative concentration)
= تركيز المحلول × طول الطبقة المحلل بها .



فى حالة التركيز المنخفض لا يحدث تداخل بين المركبين

فى حالة التركيز المرتفع يحدث تداخل بين المركبين المفصولين

٢-التركيب الطبيعي والكيميائى للمكون والمتوقفة عليه خاصية الشراهة النسبية للطور الثابت والمتحرك وهو ما له علامة كبيرة بعملية أدمصاص المركب ومن ثم الوضع النسبى لجزيئاته على العمود حيث وجد أن :

٢-١-تزداد قوة إدمصاص الجزيئات على مادة الإدمصاص بزيادة عدد الروابط الزوجية ومجاميع الهيدروكسيل فالمركبات الأكثر أيونية أكثر أدمصاص .

٢-٢-المركبات العضوية والتي بصورة إسترات أكبر أدمصاصاً عن الهيروكربونات وفى نفس الوقت فالإسترات أقل من الصورة الألدهيدية والكيتونية والأخيران أقل إدمصاصاً عن كحولاتهما المناظرة .

٢-٣-المركبات الحمضية أو القاعدية أكثر أدمصاصاً عن المركبات الفينولية والهالوجينية .

٢-٤-المركبات الهالوجينية والإسترية أكثر من الهيدروكربونات الغير مشبعة إدمصاصاً .

٢-٥-المركبات ذات الوزن الجزئى العالى يكون إدمصاصها غير عكس مع الفحم لوجود عدد كبير من نقط التلامس ويمكن تقليل شدة إدمصاصها أي تصبح عكسية بخلطها بمواد خاملة ضعيفة كالتراب الكفرى .

٣-التركيب الطبيعي والكيميائى لمادة حشو العمود من حيث حجم حبيباتها ومدى تجانسها ، وكذلك يجب وأن يكون الحشو متجانس ليعطى نتائج جيدة مطمئنة :

- فأكسيد الماغنسيوم: قوة إدمصاصه عالية للمركبات الغير مشبعة ومنخفضة للمركبات المحتوية على مجاميع هيدروكسيل .
- السيليت (Cellite) : قوة أدمصاصه عالية للمركبات المحتوية على مجاميع هيدروكسيل عن المحتوية علي روابط زوجية .
- أما الفحم(Charoal): قوة أدمصاصه عالية للمركبات الغير مشبعة
- الفلوريسيل(Florisil): قوة أدمصاصه عالية للمركبات الإسترية والإيثرية .

٤-نوع وطبيعة وقطبية المذيب المتحرك :
والذى لابد وأن يذيب كل جزيئات المكون المراد فصلة وبدرجة جيدة وليست زائدة حيث أنه إذا زادت درجة الذوبان فلا يحدث إدمصاص ديناميكى كما يكون سرعة الإحلال بالعمود منخفضة بعض الشىء وهذا يؤدى بدورة الى حدوث إنتشار للمكون فى المناطق المفصولة .

٥-سرعة المذيب خلال العمود :
يجب وان تكون سرعة المذيب خلال العمود منخفضة بعض الشىء للحصول على فصل جيد نتيجة لزيادة قوة الإدمصاص .

٦-حجم المذيب المستخدم للإزاحة :
فقد وجد أنة كلما زاد حجم المذيب كلما زاد إدمصاص المركب الأقوى حيث يحل محل المركب الأضعف إدمصاصاً على العمود وهنا يتحول الإختلاف البسيط فى قيمة (K_d) لإختلاف كبير فى معدل الحركة مما يؤدى الى حدوث شراهة نسبية للإدمصاص حيث يتنافس كلٌ من المذيب ومادة الإدمصاص على المكون .

٧-درجة الحرارة :
قد وجد أن ارتفاع درجة الحرارة يزيد من سرعة هجرة الجزيئات حيث أن لها علاقة مع كل من أيزوثرم الإدمصاص (K) ومعدل السريان (R_f)

حشو أو تعبئة العمود(Column packing):

يكون عمود الكروماتوجرافي الزجاجي الشائع الإستخدام بطول ٣٠٠ مللم وقطر داخلى (Internal diameter : ID) ٢٢-٢٤ مللم ومزود بصنبور سفلى .
حيث يتم غسيل العمود جيداً بالماء والصابون ثم بالأسيتون والتجفيف ثم بعد ذلك يتم وضع وسادة بمثابة سدادة (Plug) من الصوف الزجاجى

(Glass wool) حتى لا تتسرب مادة التعبئة من خلال فتحة الصنبور السفلية و ذلك أثناء سريان المذيب .

يتم حشو أو تعبئة العمود بمادة الإدمصاص سواء أكانت قطبية أو غير قطبية أو خليط منهما وبنسب متفاوتة للحصول على درجة القطبية المرغوبة تبعا لنوع المكون المراد فصلة عن باقى مكونات المخلوط بإحدى الطرق التالية :

- حشو رطب(Wet packing): وتمتاز طريقة الحشو الرطب بجودة التوزيع والتجانس لمادة الإدمصاص بداخل العمود فيعطى بدوره معدل سريان منتظم للنظام المتحرك وتتم بإحدى الطريقتين التاليتين :

  طريقة Sprinkling method : فبعد وضع وسادة الصوف الزجاجى بقاعدة العمود وقفل الصنبور يسكب نظام الفصل المتحرك ويسمح لفقاقيع الهواء بالخروج ثم توضع مادة الحشو داخل العمود فتنساب من جزيئات المذيب تدريجيا حتى الإرتفاع المطلوب وهنا يتم فتح الصنبور ويسكب المذيب فتترتب حبيبات مادة الإدمصاص جيداً .

  طريقةSulury method: وهنا يتم خلط مادة الإدمصاص مع المذيب المتحرك المطور (Developing) فيصبح بصورة عجينه سائلة ثم يعبأ بها العمود للأرتفاع المطلوب فتنساب بفعل الجاذبية الأرضية ويتم إنزال ما يعلق بالجدران من تكتلات لمادة الإدمصاص بواسطة قضيب زجاجى وبعد فترة يتم فتح الصنبور لصرف المذيب .

- حشو جاف(Dry packing): وتصلح هذه الطريقة خاصة مع مواء الأدمصاص ذات الحبيبات الكبيرة الحجم نسبياً كأكسيد الألومنيوم فيتم أضافها على دفعات مع الخبط :التربيط (Tapping) على جدران العمود بقطعة كارتون أو خشب صغيرة لإنتظام توزيع الحشو الجديد حتى لا تظهر جيوب أو فراغات أو شقوق .

أما فى حالة مواد الإدمصاص ذات أحجام الحبيبات الدقيقة كالتراب الكفرى أو كربونات الكالسيوم فتصاف على دفعات مع الهز فقط (Shaking).

تهيئة العمود(Column conditioning):

تتم التهيئة لبعض الأعمدة من خلال إعادة تنشيطها (Reactivation) بعد ملئها بمادة الإدمصاص حيث يوضع العمود في وضع رأسي مع فتح الصنبور داخل فرن على درجة ١٢٠ْم / ٢٤ ساعة كما فى حاله أعمدة الفلورسيل وذلك بغرض طرد أى مواد سبق إدمصاصها أثناء الحشو وبإنتهاء فترة التنشيط توضع زجاجة ساعة أو قطعة من ورق الألومنيوم على الفوهة العليا ثم يقفا الصنبور ويخرج العمود من الفرن ويترك بجو المعمل حتي يبرد .

وفى بعض الأحوال الأخرى قد تتم التهيئة لبعض الأعمدة من خلال إزالة أو تقليل النشاط السطحي لحبيبات مادة التعبئة (Deactivated) وقد يضطر إلي تغيير درجة قطبيته بإضافة قليل من الماء الى العمود .

وفى كل الأحوال يتم تبليل العمود (Prewetting) قبل وضع أو سكب العينة المستخلصة لفصل مكوناتها حيث يستخدم المذيب المناسب ويسمح له بالسريان خلال العمود وقبل نزول أخر قطرة من المذيب المستخدم وقبل إنكشاف سطح مادة الإدمصاص بالعمود أي قبل إنحسار سطح المذيب عن سطح مادة الإدمصاص يتم قفل الصنبور لحين وضع العينة مجال الفضل والتقدير ولهذا يفضل عندما يكون ارتفاع المذيب ٢مم على قمة مادة الإدمصاص وذلك لمنع حدوث تشققات (Cracking) أو فجوات (Gaps) داخل العمود مما تؤثر على نظام الإزاحة المستخدم (Eluting pattern).

وفى هذه الحالة نجد أن كل حبيبة من مادة الإدمصاص وما يحيط بها من فيلم رقيق من المذيب المستخدم في التبليل يعملا معا كوحدة إدمصاص منفردة (Single batch adsorbent unite) .

ويعتمد الفصل فى العمود على :

- طبيعة ونوع مادة الإدمصاص من حيث نوعها ودرجة نعومتها فكلما زادت درجة نعومتها زاد مساحة مسطحها الخارجي الحادث عليه الأدمصاص و درجة قطبيتها .

- طبيعة ونوع وكمية المذيب المستخدم : ولابد أن يذيب المذيب المستخدم المكون المراد فصلة وبدرجة معتدلة فإذا زادت نسبة الذوبان فلا يحدث بها تفاعل ولا يحدث الإدمصاص الديناميكى . كما يجب وأن تكون سرعة المذيب خلال العمود منخفضة بعض الشىء ليعطى فصل جيد كما يجب وألا تكون سرعته منخفضة جداً فيحدث مع ذلك انتشار للمكون فى المناطق المفصولة .

- أبعاد العمود (Column dimensions) : فزيادة طول العمود تؤدى لزيادة الفصل العالى فالعمود يمكن تخيله نظرياً بأنه يتكون من عدة طبقات نظرية (Theoretical plates) وكلما زاد عددها كلما زادت كفاءة الفصل فى نفس الوقت تقل حركة المذيب ، كذلك كلما قل القطر الداخلى للعمود كلما زادت كفاءته فى فصل المكونات .

- طبيعة ونوعية وكمية (تركيز) المكون المراد فصله فيجب وأن ينتشر بصورة جزيئية أو أيونية فى سائل الإستخلاص ويجب وأن يكون تركيزه منخفض حتى لا يحدث تداخل بين المكون والمكونات الأخرى المراد إستبعادها .

- نوع وطبيعة مادة الحشو وحجم حبيباتها ومدى تجانسها حيث يجب وأن تكون فى مدى ضيق من حجم الحبيبات .

- تجانس الحشو (Packing uniformity): فالعمود الغير متجانس في درجة إنتظام حشوه يعطى نتائج سريعة خاطئة غير منتظمة .

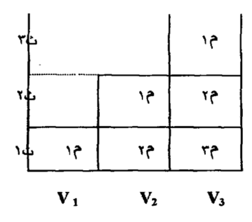
ويقسم التحليل الكروماتوجرافى بالأعمدة إلى عدة أقسام تبعـــاً لقــوة وكميــة وطريقة إضافة المذاب إلى الطور المتحرك :

١ – تحليل قمي(Frontal column chromatography):-

فعند سكب مخلوط مكون من ثلاث مركبات (م١، م٢،م٣) مع كمية كبـــيرة مَن المذيب : المزاح (Eluent) دفعة واحدة خلال العمود تنفصـــل المركبــات الثلاثة تبعاً لقوة إدمصاص كل منهم فالأقوى يدمص بمـــادة الحشـــو ويتبعـــه المركب الثانى (الأقل) فالثالث (الأقل) وهكذا .

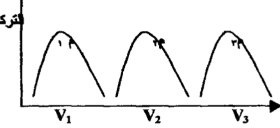
وعند غسيل العمود بنفس المذيب أي غسيل الطبقـــات الثـــلاث للثـــلاث مركبات و إستقبال المترشح من العمود على دفعات كل دفعـــة فـــى أنبوبـــة منفصلة وعلى فترات متماثلة ثم يقاس تركيز كل مركب بكل أنبوبة نحصـــل على منحنى يسمى Stepwise diagram حيث نجد أن الحجم :

- V1 يحتوى على المركب م١ فقط وبصورة نقية لتركه العمود نتيجة قلة إدمصاصه بمادة الحشو .
- V2 يحتوى على المركب م٢ وبقايا من المركب م١ .
- V3 يحتوى على المركب م٣ وبقايا من المركب م٢ ، م١ .



٢ – تحليل بالإزاحة(Elution column chromatography):

فعند سكب مخلوط مكون من ثلاث مركبـــات (م١، م٢،م٣) مـــع كميـــة صغيرة من مذيب الإزاحة خلال العمود . ثم تضاف بعد ذلك دفعات متتاليـــة كمذيب مطور (Developer) وربما يكون هذا المذيب قوى لكنه أقل من قـــوة أدمصاص المركب فنجد أن المركب م١ يمر خلال العمود في صورة طبقـات منفصلة وبسرعة تختلف بإختلاف قوة إدمصاصه بالعمود ويأخذ شـكل قمـم منحنيات (Peaks) وعند تمثيله بيانيا يلاحظ وجود ذيل (Tail) أى أن الفصـل غير كامل .



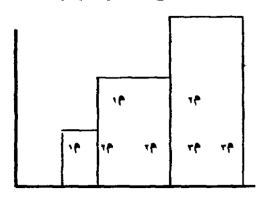
لذا يجب عمل نظام إزاحة متدرج (Gradient elution) من خلال الفصـل بمذيب يذيب المكون م١ جيداً ثم يستقبل هذا المترشح (V_1) نجد أنــه يحتـوى على المركب م١ فقط وهكذا وبإستخدام مذيب آخر يناسب المركب الثانى فقـط وآخر يناسب المركب الثـــالث . أى تســتخدم مذيبـــات تتنـافس مـــع قـــوة الإدمصاص فى إزاحة المركب .

٣–التحليل بالإحلال Displacement chromatography):

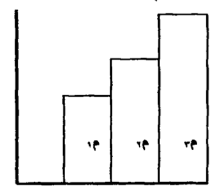
وهنا يكون المذيب المستخدم "محلل (Displacer) نشط جـداً ولـذا قـوة إدمصاص عالية جداً وأعلى من قوة إدمصاص مادة الإدمصاص على شـد و جذب جزيئات المركب فيحل محلها ويطردها خارج العمـود أى أن المذيـب يتنافس بدون حد فاصل مما يؤدى لتداخلهما فى منطقة مختلطة(Mixed zone) وهو ما يعيب هذه الطريقة ولهذا النوع من الإحلال صورتين :

٣-١-إحلال حامل (Carrier displacement) :

ويستخدم للتغلب على ظاهرة المنطقة المختلطة فتستخدم مادة إدمصاص لـــها قوة إدمصاص وسطية فتعمل على وجود فواصل (Interposition mats) فتبتعـد الطبقات عن بعضها فيسهل فصل كل طبقة (مركب) على حدة .



التحليل بالإحلال فى عدم وجود حامل



التحليل بالإحلال فى وجود حامل

٣-٢-إحلال تدريجي (Gradient displacement) :

ويستخدم لتقليل التزييل فى الفصل بالإزاحة حيث تـــزداد قـــوة المذيـــب المزيح تدريجيا بزيادة الكمية المضافة مما يؤدى لظهور الطبقات وكل منــــها فى صورة منضغطة (Compact zones) أى بدلا من الإضافة فى خطوة واحـدة كما سبق تتم بإضافة تدريجية مستمرة من المذيب المزيح .

مواد الإدمصاص (Adsorbent materials) :

تتميز المواد المستخدمة فى الإدمصاص (المواد المدمصة) والمســتخدمة كطور ثابت بالخصائص التالية :

- عدم الذوبان فى نظام مذيبات الطور المتحرك
- وعدم تفاعلها كيميائيا مع المركبات التى تدمصها فـــلا تفــاعل كمــا يحدث عند فصل الكاروتين على سطح الألومنيا فينفرد منه دفعة كاروتين بيتا و جاما .

- تفضل مواد الإدمصاص التى تفصل عليها جزيئات المركب فى صورة طبقات ملونة مميزة .
- تعتمد زيادة سعة إدمصاصها (Adsorbent capacity) على مساحة سطح حبيباتها والذى بدورة يعتمد على دقة أو نعومة حبيباتها فكلما زادت درجة نعومة حبيباتها كلما زاد عددها فى وحدة الوزن وبالتالى زادت مساحة مسطحها الخارجى المدمص .

كماتتميز مواد الإدمصاص تبعاً للمجموعة الدالة السطحية (قوة الإدمصاص) إلى :

- مواد أدمصاص قوية (Strong Adsorbent) مثل سيليكات الماغنسيوم > أكسيد الألومنيا > الفحم > أكسيد الماغنسيوم > فوللر .

- مواد إدمصاص متوسطة (Median Adsorbent) مثل كربونات الكالسيوم > فوسفات الكالسيوم > هيدروكسيد المنجنيز > هيدروكسيد الكالسوم .

- مواد أدمصاص ضعيفة (Waked Adsorbent) كالسكروز > النشا > التلك > كربونات الصوديوم .

أما من جهة تقسيم مواد الإدمصاص كيميائيا فتقسم إلى :

- أحماض وقواعد وأميدات ذات قوة إدمصاص عالية .
- كحولات وفينولات وأمينات وذات قوة إدمصاص عالية وأقل من السابقة .
- ألدهيدات وكيتونات ذات قوة إدمصاص متوسطة .
- إسترات وهالوجينات ذات قوة إدمصاص متوسطة وأقل من السابقة .
- هيدروكربونات غير مشبعة وذات قوة إدمصاص منخفضة
- هيدروكربونات مشبعة وذات قوة إدمصاص منخفضة وأقل من سابقتها.

كما تقسم مواد الإدمصاص من حيث منشأها إلى :

- مواد عضوية (Organic adsorbent) :

مثل نشا البطاطس والسليلوز المنقى (Purified cellulose) و بعض بقايا التربة العضوية . وهى مواد إدمصاص طبيعية ومفيدة فى الإستخدام إذا ما كان المطلوب هو إدمصاص كذلك يعد ورق الترشيح والفحم من المواد الجيدة فيعمل السليلوز كدعامة للماء (وسط ثابت) والمسوك فى حبيبات السليلوز حيث يمتصه من الهواء الجوى المحيط

- مواد غير عضوية(Inorganic adsorbent):-

ومن أمثلة هذه المركبات السيليكات (Silicate) و أكسيد الماغنسيوم (Mg O) الميكرونى (الماجنيسيا) وهيدروكسيد الكالسيوم وكربونات الباريوم والكالسيوم المغنسيوم ، جدول رقم (٣-٤) :

جدول رقم (٣-٤) : بعض مواد الإدمصاص الشائعة وميكانيكية عملها والمركبات التى تدمص عليها :

مادة إدمصاص	الميكانيكية	المركبات المدمصة عليها
سيليكا جيل	إدمصاص	ويلزم عمل تنشيط لها قبل الإستخدام وعموما تستخدم مع المركبات الهيدروفوبية: الليبوفيلية مثل :هيدروكربونات- ليبيدات-فلوريدات-أحماض أمينية-كحولات-أفلاتوكسينات- فيتامينات-مبيدات-قلويدات ويستخدم الطور المتحرك مذيبات عضوية ويلزم لتطوير ١٠سم/٢٠-٤٥ د
أكسيد ألومنيوم	إدمصاص	ليبيدات-أمينات-كحولات-إستيرويدات-قلويدات-مبيدات- أفلاتوكسينات
سيليكات مغنسيوم	إدمصاص	ليبيدات-قلويدات-إستيرويدات-مبيدات
سليلوز	تجزيء	ويستخدم مع المواد الهيدروفيلية العضوية والغير عضوية القطبية ويستخدم معها أطوار متحركة عضوية مشبعة بالماء أو المنظمات ولايلزم تنشيطها ويلزم لتطوير ١٠سم/٦٠-٩٠ د وتستخدم مع : أحماض كربوكسيلية وأمينية ودهنية- كربوهيدرات-كحولات .
سليلوزPEI	تبادل أيوني	أحماض نووية-نيوكليوتيدات-بيورينات-بريمينات
سيليكا جيل RP	طور عكسي	أحماض دهنية -هورمونات-إستيرويدات-كاروتينات- فيتامينات والطور المتحرك معها يكون محاليل هيدروفوبية

شحنة المادة المدمصة (Adsorbent charge) :

تستخدم المواد المدمصة فى إزالة الجزيئات المبعثرة للمواد من المحلـول وأيضاً لإزالة المواد للغروية المبعثرة كالجزئيات ذات الحجم الكبير ويظـــهر من هذه المعاملات أن كثير من المواد المدمصة فى محاليلها المائية أو المـواد المتأينة تأخذ شحنة مميزة :

- جزيئات مشحونة بشحنة موجبة فى المـــاء(Positive charge particles in water):

  كالألومنيا والهيدروكسيدات والبروتينات والإينوسول القاعدي وأكاسيد المعادن والصبغات القاعدية (Basic dye stuffs) و البرومين .

- جزيئات مشحونة بشحنة سالبة فى المـاء (Negative charge particles in water):

  كالكاؤولينيت(Kaolinite) والزياليت (Zealite) والبيوتانيت (Butanites) والقطن والفحم والآجار والسلفويدات المعدنية وأحماض الإينسول والصبغات الحامضية وزجاج السيلكا .

أمثلة لبعض أعمدة الكروماتوجرافي الشائعة الاستخدام :

١-عمود الألومنيا : أكسيد الألومنيا (Alumina column) :

تتميز أكسيد الألومنيا يطبيعة قاعدية وترجع قوة إدمصاصه إلـــي حــدوث نوعين من الإدمصاص علي حبيباته وهما :

- إدمصاص حقيقي (غير قطبي) :

  حيث ترتبط ذرات المكونات الغير قطبية بسطح حبيباتها بروابط هيدروجينية وقوي فان درفالس .

- إدمصاص غير حقيقي (قطبي) :

  حيث يحتوي أكسيد الألومنيوم علي كاتيونات صوديوم تلعب دورها كمبادل كاتيوني ويمكن زيادة هذه الخاصية بغسلها بهيدروكسيد الصوديوم وهنا يكون سطحها في صورة $(Al\,O\,Na)_2$)

أو تستخدم كمبادل أنيوني عند عجنها بالماء ثم تعامل بحمض الهيدروكلوريك ٢عياري ثم تغسل عدة مرات بالماء المقطر وهنا تكون صورتها ($Al\,Cl^-$) .

وعليه فعند فصل مركب قاعدي عليها تحدث التفاعلات التالية :

إدمصاص حقيقي : نتيجة قلة المكونات الجزيئية الأيونية والكاتيونية أي إدمصاص جزيئي .

إدمصاص كمبدل كاتيوني :

$$AlONa^+ (BH)^+ Cl \longrightarrow AlOH + B + NO^+ + Cl^-$$

تنزل في المترشح

إدمصاص كمبدل أنيوني :

$$AlCl^- + (BH^+) OH \longrightarrow AlOH + BH^+ + CL^-$$

$$AlCl^- + (BH^+) Cl^- \longrightarrow AlCl_3 + B^- + H2O$$

لذا تعد الألومنيا المتعادلة مادة إدمصاص أمفوتيرية (Amphoteric) تلعب كاكتيون أو كاأنيون ولكن إحتوائها علي صفات حامضية حقيقة يتوقع لها أن تكون كمبادل كاتيوني .

وتتركب من ٩٢ % أكسيد ألومنيوم و ١ % أكسيد صوديوم و ٠,١ % أكسيد حديديك و ٠,١ % أكسيد تيتام ($Ti\,O_2$) وقد يحتوي علي كربونات أو بيكربونات صوديوم ولهذا يلزم الحذر في إختيار المركبات المراد فصلها عليه لأنه قد يؤدي لتحطم وإنهيار جزيئاتها أو يؤدي إلي إعادة وضع ترتيب ذراتها بالجزيء (Rearrangement) .

وهنا يتم وضع وسادة من الصوف الزجاجي أسفل العمود ثم توضع طبقة من كبريتات الصوديوم اللامائية (Anhydrous sodium sulfate) تعلوها بإرتفاع ٤٠-٥٠ مللم لنزع رطوبة المحاليل المراد فصل مكوناتها ثم يتم حشو بواسطة أكسيد الألومنيا والتي تم تنشيطها من قبل بتسخينها لدرجة ٤٥٥-٥٢٨ °م ولا يستحب زيادة درجة الحرارة عن ذلك .

٢-عمود الفحم (Charcoal column)

وهنا تكون طبقة الإدمصاص المعبأ بها العمود عبارة عن الفحم والذي قـــد يكون :

- فحم سكري (Sugar charcoal) ويحتوي علي ٩٥,٢ % كربــون و ٥,٧ % هيدروجين و ٤ % أكسيجين .
- فحم عظمي (Bone charcoal) ويحتوي علي ٩,٣ % كربــون و ٧٥ % فوسفات كالسيوم و٥.٢٣ % أكسيد حديديك .

وينقي الفحم المطحون (٣٠٠ مش) ويخلط في وعاء ألومنيوم مع حمض الهيدروكلوريك ليكون عجينة حيث يدفيء بلطف أثناء إضافة الحمـــض ثـــم يسخن حتي يزال الحمض ويغسل بالماء المقطر عدة مرات من خـــلال قمـــع بخنر ثم يجفف ويحرق في معزل عن الهواء (Ignited)

٣- عمود السيليكا (Silica column) :

وهنا تكون طبقة الإدمصاص المعبأ بها العمود هي السيليكا والتي تســتخدم في فصل المركبات الهيدروكربونيـــة الأليفاتيـــة والآروماتيـــة والنافثينـــات والبارافينات خاصة للمركبات القطبية وذلك بعـــد غســـلها بـــالكحول فـــتزيد مقدرتها في طرد الرطوبة .

كذلك فتبليل العمود بالأسيتون أو الإيثر يضفي عليها نشاط كبير جداً كذلـك فتسخينها إلي درجة ١٠٠-٢٠٠ ْم / ٤٠ دقيقة يزيد نشاطها وهنا فإن ســعتها الإدمصاصية تعادل حمض السيليسيك .

والسيليكا ذات طبيعة حامضية وغالبا ما تســـتخدم معـــها مـــادة رابطـــة (Binding agent) مثل كبريتات الكالسيوم خاصة مع الســـيليكا ذات الحبيبـــات الكبيرة .

كما قد يضاف إليها بعض أدلة الأشعة الفوق بنفسيجية (Ultra Violet light indicators : UVL indicators) لإظهار أماكن المواد المصولة بها حيث تكـــون تحت الأشعة مناطق غير مضيئة .

ومن أمثلة مركبات السيليكا حمض السيليسيك والسيلكا جيل .

٤- عمود السيليت الحامضي (Acid Cellite column) :
وهنا يتم حشو عمود الكروماتوجرافي بمادة السيليت ٥٤٥ بعد طحنها جيداً في هون مع حمض الكبريتيك المدخن (٣٠ ملل حمض / ١٠ جم سيليت) ثم بحمض النيتريك المركز (٣٠ ملل حمض / ١٠ جم سيليت) .
ويراعي أن يتم وضع السيليت في العمود علي دفعات مع الـــتربيت علـــي العمود وكبسها أو دكها بواسطة قضيب زجاجي حتي لاتتكون فراغات بيـــن الحبيبات .
ثم يتم تبليل العمود بإستخدام ١٠ ملل من رابع كلوريـــد الكربـــون وقبـــل إنحسار رابع كلوريد الكربون عن سطح السيليت وظهوره يمكن كبـــس أو دك سطح الطبقة العلوية بقضيب زجاجي وهنا يضاف ١٠ ملل أخري من رابـــع كلوريد الكربون وقبل إنحســـاره عنـــها يضـــاف المركـــب المـــراد فصلـــه (إستخلاصه)أو تنقيته .
ويتم إزاحة المكون بإضافة دفعات متتالية (Successive portions) مـــن رابع كلوريد الكربون كل منها ٢٠ ملل ثم يؤخذ المترشح ويذاب في البتروليم إيثر للتحليل .
ويمكن معاملة العمود بالمستخلص الناتج من محلول الإزاحة ٦ %والناتج من عمود الفلورسيل بعد تركيزه للجفاف وإذابته في رابع كلوريد الكربون .

٥-عمود أكسيد الماغنسيوم والسيليت (Mg O – Cellite column) :
وهنا يتم حشو عمود الكروماتوجرافي بمخلوط متســـاوي مـــن مـــادتي أكسيد الماغنسيوم والسيليت (٥جم من كل منهما) حشواً منتظما وبمســـاعدة التربيت المنتظم وبالضغط علي سطح الطبقة العلوية بقضيب زجاجي مفلطـــح الطرف .
ويتم تبليل العمود بواسطة ٤٠ ملل بترولیم إيثر وقبـــل إنحســـار ه عـــن سطح الطبقة العلويـــة لمـــادة الحشـــو يتـــم إضافـــة المســـتخلص المركـــز (Concentrated extraction) للمكون المراد فصله عن باقي المكونـــات أو عـــن الشوائب المتداخلة معه : عملية تنقيـــة (Clean-up) وتجـــري الإزاحـــة هنـــا بإستخدام دفعات من البتروليم إيثر (١٠٠ ملل علي دفعات) . أو قـــد يكـــون المستخلص المضاف هو مخلوط الإزاحة ١٥ % الناتج من عمود الفلورسيل.

٦-عمود البنتونيت (Bentonite column) :

وهي مجموعة من مواد الإدمصاص التي تعبــأ بــها الأعمــدة ويتوقــف سلوكها علي حجم حبيباتها وتركيبـــها وشــكلها فبعضـــها ســيليكاتي مثــل الكاؤولينيت (Kaolnite) والزليت (Zeolite)وبعضـــها يحتــوي علـــي أيــون الصوديوم والكالسيوم أو البوتاسيوم والمنجنيز والتلك .

وتعد من مواد الإدمصاص الجيدة فيفصل بها عدد كبير من صبغــات الآزو المكبرتة (Sulfonated azo dyes) وذلك بإستخدام البيريدين المائي .

٧-عمود التراب الكفرى (Diatomaceous column)

وهي مواد إدمصاص طبيعية مثل: Filler cel , Hyphlo super cel , Dicalte &: speed plus .

ولكونها مادة إدمصاص منخفضة الوزن وخاملة فيمكن إستخدامها كمـــادة دعامية (Support material) في أنظمة الكروماتوجرافي التجزيئـــي (Partition chromatography) . ووجودها يؤدي إلي تحسين معدل إنسياب المذيب داخـــل العمود مع سهولة تعبأتها .

٨- عمود الفلورسيل (Florisil column) :

وهنا يتم تعبئة العمود بمادة الفلورسيل وبطبقة إرتفاعها ١٠ سم ويـتراوح قطر حبيباتها بين ٦٠-١٠٠ مش . ويتم تنشيط العمود بعد حشوه بوضعه في الفرن علي درجة حرارة ١٢٠- ١٣٠ °م /٦ ساعة أو تنشط قبل تعبئة العمود ويفضل وضع طبقة من كبريتات الصوديوم اللامائية بإرتفاع بوصـــة تقريبــاً أعلي طبقة الفلورسيل لإمتصاص الرطوبة من العينة كما أنها تحمـــي طبقــة الفلورسيل من فقد نشاطها .

ويتم تهيئة العمود بالحرارة كما سبق في الفرن وصنبور العمـــود مفتــوح وفي وضع رأسي وقبل إخراجه من الفرن يتم وضع زجاجـــة ســاعة علـــي فتحته العليا ثم يقفل الصنبور لعزله عن جو المعمل عندما يخرج من الفـــرن وترك حتي يبرد في جو المعمل .

وبعد أن يبرد العمود تستكمل تهيئته بتبليله بالبتروليم إيثر كخطوة تهيئة ثانية ومن هذه اللحظة يراعي ألا يجف العمود وألا ينحصر البترووليم إيثر المضاف للتبليل عن سطح طبقة كبريتات الصوديوم . فإنحسار المذيب عن الطبقة العليا السطحية يؤدي لحدوث تشقق (Cracks) وإنفصال حبيبات الفلورسيل عن بعضها فتتغير نتيجة ذلك سرعة مخلوط الإزاحة فيتأثر بذلك نمط إنموذج الإزاحة (Elution pattern) .

ويلاحظ أن عمود الفلورسيل يختلف ويتميز عن الأعمدة السابقة فيمكن بواسطته فصل وتجزيء العينة إلي ثلاثة قطفات (3-fractions) وذلك من خلال إستخدام ثلاثة مخاليط إزاحة مل منهم يختلف عن الأخر في قطبيته :

- فقبل إنحسار طبقة البتروليم إيثر المستخدمة في التبليل تتم إضافة محلول العينة وقبل إنحساره يتم إضافة مخلوط الإزاحة الأول ويتكون من ٦ % داي إيثيل إيثر في البتروليم إيثر ويستقبل الراشح في أنبوبة إختبار لإستكمال باقي عمليات التحليل (قد يضاف للوعاء الموضوع فيه مخلوط الإزاحة كمية من كبريتات الصوديوم اللامائية لإمتصاص الرطوبة ، كذلك يضاف ٢ % كحول إيثانول لمنع تكوين البيروكسيدات والتي قد تؤدي لأكسدة بعض أو كل مكونات العينة أو تؤدي لحدوث إنفجارات بالمعمل . كما أنها في نفس الوقت تغير من درجة قطبية مخلوط الإزاحة والذي يؤثر بدوره علي نمط الإزاحة ، جدول رقم (٣-٥) كما أن نسبة الكحول هذه تزيد من رطوبة المحلول ولهذا تضاف كبريتات الصوديوم اللامائية).

- وقبل إنحسار مخلوط الإزاحة الأول عن سطح الطبقة السطحية للعمود يتم إضافة مخلوط الإزاحة الثاني والمتكون من ١٥ % داي إيثيل إيثر في البتروليم إيثر ويستقبل المترشح في إنبوبة إختبار ثانية كما سبق ويستخدم مع العينات المحتوية علي نسبة قليلة جداً من الدهون .

- وقبل إنحسار مخلوط الإزاحة الثاني عن سطح الطبقة السطحية للعمود يتم إضافة مخلوط الإزاحة الثالث والمتكون من ٥٠ % داي إيثيل إيثر في البتروليم إيثر ويستقبل المترشح في إنبوبة إختبار ثالثة كما

سبق.ويلاحظ أن مخلوط الإزاحة الثالث لا يستخدم مع العينات المحتوية علي نسبة عالية من الدهون .

أي أنه كلما زادت نسبة الداي إيثيل إيثر في مخلوط الإزاحة تزداد نسبة القطبية تدريجيا فقطبية مخلوط الإزاحة الثالث أكثر قطبية من مخلوط الإزاحة الثاني والأخير بدوره أكثر قطبية من مخلوط الإزاحة الأول .

ويجب الأخذ في الإعتبار أن نظام الإزاحة لكل مخلوط من مخاليط الإزاحة الثلاثة يختلف في حالة عدم إحتوائها علي نسبة ٢% كحول أو في حالة إضافة ٢ % أو مضاعفتها ٤% فوجود الكحول يؤدي بزيادة القطبية وبالتالي نمط الإزاحة .

<u>جدول رقم (٣-٥)</u> : أنموذج الإزاحة لمخاليط الإزاحة الثلاثة :

المركب	داي إيثيل إيثر خالي من الكحول			داي إيثيل إيثر + ٢% كحول			داي إيثيل إيثر + ٤% الكحول		
	%٦	%١٥	%٥٠	%٦	%١٥	%٥٠	%٦	١٥ %	%٥٠
هيبتاكلور	١٠٠	–	–	١٠٠	–	–	١٠٠	–	–
ديلدرين إيبوكسيد	–	٨٧	١٣	–	١٠٠	–	٧	٩٧	–
إندرين	–	١٠٠	–	–	١٠٠	–	١٦	٨٤	–
ديازينون	–	١٠٠	–	–	١٠٠	–	٣	٩٧	–
ميثيل باراثيون	–	–	١٠٠	–	١٠٠	–	٢	٩٨	–
إيثيل باراثيون	–	١٦	٨٤	–	١٠٠	–	٣	٩٧	–
مالاثيون	–	–	–	–	–	١٠٠	–	١٠٠	–

ومن الأهمية بمكان في هذا الصدد عم إستخدام أفران تنشيط مواد الإدمصاص في أغراض معملية أخري حتي لاتؤدي إلي تلوث مواد

الإدمصاص وتكون النتيجة حدوث تداخلات وعدم دقة في النتائج المتحصل عليها .

والجدول التالي رقم (٣-٦) يوضح أمثلة لبعض السموم والملوثات البيئية والتي يمكن فصلها بإستخدام مخاليط الإزاحة الثلاثة للداي إيثيل إيثر في البتروليم إيثر علي عمود الفلورسيل ذات مدي من درجة حجم الحبيبات يتراوح بين ٦٠-١٠٠ مش .

جدول رقم (٣-٦) : أمثلة للسموم والملوثات البيئية والتي تم إزاحتها بمخاليط الفصل الثلاثة

الملوث	مخلوط الإزاحة الأول	مخلوط الإزاحة الثاني	مخلوط الإزاحة الثالث
ملوثات هيدروكربونية كلورونية عضوية	كلوردان-أكسيكلوردين ألدرين-بنزين هكساكلوريد-ميثوكسي كلور-هبتاكلور- هيبتاكلور إيبوكسيد- هكسا كلوربنزين- ددت- ددد-ددإ-ميركس- توكسافين-بيفينولات عديدة الكلور-بيرثان- باراكلورونيتروفينول	آراميت-بيولان- كلوروبنزيلات-كلوروفام- ديلدرين-إندرين- إندوسلفان(١و٢)-أوفكس- برولان-تترادايفون- أنيلازين-٢و٤-د:-IBE) EHE-BOEE-BE-IOE) ٢و٤و٥-ت-EHE-BOEE) BE-IBE)	إندوسلفان (٢)- إندوسلفان سلفات - أترازين- سيمازين-إندرين كحولي وألدهيدي- برومترين-
ملوثات هيدروكربونية فوسفورية عضوية	بروموفوس إيثيل- إيثيون-كاربوفينثيون- كلوربيريفوس- دايفونات- دايكلوروفينثيون- دايسلفتون-ليبتوفوس- ميركس-فوريت-رونل- ستروبان-تيلودرين- زئران-ترايفلورالين	ديازينون-دايكابثيون- فنيتروثيون-ميثيل كاربوفينثيون-ميثيل باراثيون- إيثيل باراثيون- EPN	أزينفوس إيثيل-أزينفوس ميثيل-فوزالون-مالاثيون- DEF
ملوثات متنوعة	كلورديكون- كلوربنزيلات-ديلان- ديكلوران-إندوسلفان- فولبت	كلورديكون-كلوربنزيلات- ديلان-ديكلوران- إندوسلفان-فولبت	

ويجب الأخذ في الإعتبار أنه في حالة التحليل المتعدد لمتبقيات السموم (Multi residue analysis) تؤخذ المخاليط الثلاثة معاً ثم تركز لإستكمال باقي عمليات التحليل للكشف عن كل المكونات المتواجدة بالعينة موضع البحث .بينما في حالة الكشف عن إحدي المكونات بالعينة فإنه يؤخذ كل مترشح لكل مخلوط علي حدة لإستكمال باقي عمليات التحليل للتأكد من وجود هذا المكون من عدم وجوده .

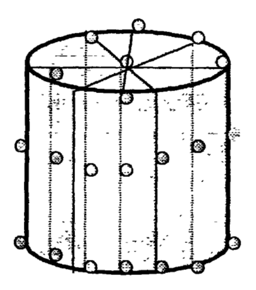
مما سبق يمكن تلخيص طرق التنشيط المختلفة لمواد الإدمصاص والتي تؤدي إلي تحسين الصفات السطحية لمادة الإدمصاص لتلائم وطبيعة المكون أو المكونات المراد فصلها عليها :

- التنشيط بالتسخين كما في حالة عمود الألومنيا وحتي ٢٠٠ °م بينما في حالة السيليكا فتنشط بالتسخين لمدي يتراوح بين ١٨٠–٢٠٠ °م مع تيار بطيء من غاز خامل أما أعمدة الفلورسيل فتسخن في مدي يتراوح بين ١٢٠–١٣٠ °م في حين أعمدة الفحم فتسخن بلطف ثم بشدة ويبرد في مجفف .
- التنشيط بالغسيل بمذيبات خاملة دافئة .
- التنشيط بالغسيل بمذيبات معاد تنشيطها وإزالة المواد المتداخلةمعها .
- التنشيط بالأحماض والقواعد كما في حالة أعمدة الألومنيا (كاتيوني–أنيوني) .
- التنشيط بتغير السطح عن طريق تغطية حبيبات مادة الإدمصاص بمعادن أو أحماض دهنية .

تقييم عمود الفلورسيل (Evaluation of Florisil column) :

تعد خطوة تقييم عمود الفلورسيل إحدى الطرق الهامة الواجب إجرائها قبل إستخدامه للتعرف علي مدي إختلاف أي من صفاته ومميزاته والتي تختلف تبعاً للشركة المنتجة له ولهذا يجب إجراء تقدير لمواصفات نمط أو نظام الإزاحة (Elution pattern) ومعدل الإسترجاع (Rate of recovery) لعدة مركبات شائعة الإستخدام .

ويتم نقل وتداول الفلورسيل (Handle & Transportation) في أكياس بلاستيك كبيرة من البولي إيثيلين داخل عبوات برميلية وبمجرد وصولها للمعمل تؤخذ عينات شعاعية وأعماقية مختلفة كما بالشكل رقم (٣-١) بعدها يجب تفريغها بأواني زجاجية . ويتم خلط هذه العينات وتعبأ بها أعمدة كروماتوجرافية وتنشط علي درجة ١٣٠ ْم / ٦ ساعة وتهيء كما سبق ثم يضاف إليها مخلوط لعينة معلومة ومدروسة ويجري إستخلاصها بمخاليط الإزاحة الثلاثة كما سبق وتستقبل المترشحات الثلاثة وتبخر لتركيزها كل علي حدة بواسطة الكيودرنادانش حتي حجم قدره ٢-٥ ملل ثم يستكمل التبخير بإستخدام تيار من النيتروجين حتي يصل الحجم إلي ٠,٥ مللوتحلل بإستخدام جهاز الكروماتوجرافي الغازي لتقدير معدل الإسترجاع حتي يتسني إبداء القرار بقبول أو رفض العبوة .



شكل رقم (٣-١):طريقة أخذ عينات الفلورسيل من عبواته الكبيرة للتأكد من مواصفاتها حيث تشير الكرات السوداء لموضع أخذ العينة

ثانياً : الكروماتوجرافي الورقي (Paper Chromatography) :

وهنا تتوزع مكونات العينة أو المستخلص الحيوي بغرض فصل المكونات عن بعضها أو بغرض تنقيتها (Clean – up) من الشوائب التي تحتويها لتقديرها وذلك من خلال إمرارها بين وسطين (الطور الثابت و الطور المتحرك) حيث تتوقف سرعة الفصل علي إختلاف سرعة الهجرة التفاضلية أو التميزية (Differential Migration) لمكونات العينة نتيجة التجزيئ المستمر لها بين الوسطين (Continuos partitions) الثابت والمتحرك.

ويمكن القول أن القوي الرئيسية التي تؤثر وتتحكم في هذا النوع من الفصل هي :

- التوزيع التجزيئ بين المذيب المتحرك علي طول الورقة والماء الممسوك في السيليلوز .
- الإدمصاص (الروابط الهيدروجينية وقوي فان درفالس (Van der weals) علي سيليلوز الورقة.
- التبادل الأيوني علي مجاميع الكربوكسيل أو الهيدروكسيل الخاصة بالسيليوز الورقي .

وقد تؤثر أي من هذه القوي منفردة أو مجتمعة علي عملية الفصل وبالتالي علي معدل تحرك كل مكون في المخلوط :

١–الطور الثابت (Stationary : Immobile phase)

وهو ورق سليلوز نقي (pure cellulose paper) خامل لا يتم بينه وبين مكونات العينية المراد فصلها وتعريفها (أو المستخلص المراد تنقيته) أي تفاعل .

وتختلف نوعية الورق باختلاف عدد الثقوب في البوصة المربعة والتي بناء عليها يأخذ الأرقام مثل واتمان رقم ١، ٣ ، ٤ ، ١٥ ، ٢٠ وهو ما يؤثر بدوره علي معدل السريان ولهذا فللورق ثلاثة أنواع تبعا لمعدل السريان (Rate of Flow : R_f) جدول (٣–٧) :

- ورق بطئ (Slow) : مثل ورق واتمان رقم ٢٠
- ورق متوسط (Medium) : مثل ورق واتمان رقم ١ وهو رقيق وكذلك ورق واتمان رقم 3M وهو سميك
- ورق سريع (Fast) : مثل ورق واتمان رقم ١٥ وهو ورق رقيق وكذلك ورق واتمان رقم ٤ وهو سميك

ويتميز ورق الكروماتوجرافي بطبيعية هيدروفيليـــة (Hydrophilic) محبـــة للماء فيمكنه إمتصاص نسبة من الماء (الرطوبة الجوية) بـــالمعمل تـــتروواح بين ٢٠-٧٠ % تبعاً لروابط فإن در فالس وبمساعدة الحرارة وتكون نســـبة ١٣% ماء تقريبا مرتبطة سطحياً لذا يميل الـــورق لامتصـــاص المركبـــات الأكثر قطبية ويكون مكانها قرب نقطة الأصل دائماً : خط البداية (Start line) بينما تكون المركبات الأقل قطبية قرب خط النهاية (Front line) متحركة مـــع النظام المتحرك .

وتتركب ورق الكروماتوجرافي كيميائياً من :

- ٩٨-٩٩ % سليلوز نقي
- ٠,١-٠,٣ %سليلوز بيتا
- ٠,٤-٠,٨ % بنتوسان (Pentosan)
- ٠,٠١٥-٠,٠٣٠ % مواد صلبة تذوب بالأثير
- ٠,٠٠١-٠,٠٦٠ % أمونيا
- ٠,٠٠٨-٠,٠٦٠ % مواد غير-عضوية
- < ٠,٠١ % نيتروجين عضوي.

وقد يعامل الوسط الثابت بمعاملات خاصة بأمرار الورق في مذيـــب أو نظام مذيبي (Solvent system) معين كالسيليكون (Silicone) فيغطـــي ســـطحي الورقة به (Coated paper) فتصبح طبقة السيليكون هي الوسط الثابت هنـــا ثـــم تجفف بعد معاملتها وتكون وظيفة هذه الطبقة هو تـــأخير حركـــة المنـــاطق (Zones) علي الورقة.

وقد يعامل الورق ليصبح ذو طبيعة ليبوفيللية (Lipophylic in nature) أي أقـــل قطبية عن الورق بدون معاملة .

جدول (٣-٧) : الأنواع المختلفة من ورق الكروماتوجرافي (واتمان) وأهم مواصفاتها:

مرتبة الورق	وزن م٢ جم/م٢	سمك الورقة (مللم)	ملمس الورقة	انتشار الماء د ٧,٥سم/م	انتشار المذيب ساعة/ 40سم			صفات أخري خاصة	أقرب نوع مماثل
1	87	0.16	ناعم	9.0	17	6	15		
2	97	0.18	ناعم	12.5	-	-	-		
3	185	0.38	خشن	9.0	16.5	5.5	13.5		
3 (MM)	185	0.33	ناعم	9.0	15.0	5.0	12.5		
4	92	0.20	ناعم	5.0	8.0	3.0	12.5		
17	440	0.80	ناعم	3.0	-	-	7.0		
20	93	0.16	ناعم	25.0	-	-	-		
31(ET)	190	0.33	ناعم	2.5	-	-	-		
40 :Ashless	95	0.21	خشن	-	-	-	-	نقاوة عالية	Chroma :2
41	91	0.21	خشن	-	-	-	-	نقاوة عالية	" :4
42	100	0.20	خشن	–	–	–	–	نقاوة عالية	" :4
52Acid&H	100	0.16	ناعم جدا	-	-	-	-	مقاوم للبلل لفترة	" .2
54	93	0.17	ناعم جدا	-	-	-	-	مقاوم للبلل لفترة	" -4
Acid & HX Ashless								نقاوة عالية جدا +	
540	88	0.14	ناعم جدا	-	-	-	-	مقاومة عالية للبلل	" .2
541	82	0.15	ناعم جدا	-	-	-	-	. . . + . . .	" .4
542	100	0.15	ناعم جدا	-	-	-	-	. . . + . . .	" .20

ويجب مراعاة ومعرفة النقاط التالية بـــورق الكرومـــاتوجرافي مجـــال الاستخدام :

١-إتجاه الألياف بالورقة :

يجب معرفة إتجاه تصنيع الورقة (اتجاه الألياف) قبل استخدام الورقـــة في العمل وهي موضحة علي غطاء العلبة من الخارج حيث تكـــون حركـــة المتحرك أثناء الفصل أسرع عندما يكون اتجاه الحركة هو اتجاه الألياف وفـــي

حالة فقد إتجاه الألياف بالورق المستعمل يمكن التعرف عليه من أحد النقـــاط التالية:

- تقطيع الورق يكون سهل عندما يكون إتجاه القطع هو اتجاه الأليـــاف (اتجاه ماكينة التقطيع) والعكس صحيح.
- عندما تعرض الورقة لبخار الماء أو وضعها علي الماء لتطفو عليـــه يكون إتجاه إلتوائها هو إتجاه الألياف.
- عند وضع قطرة ماء علي الورقة فإنها تتشرب وتنتشـــر فـــي شـــكل بيضاوي ويكون محورها الطولي هو اتجاه الألياف.
- إذا كانت الورقة مستطيلة يكون اتجاه طولها هو اتجاه الألياف ، أمـــا إذا كانت الورقة مربعة فاتجاه السهم علي العلبة يكون هو اتجاه الأليـــاف (الأنابيب) أو يجري ما سبق لمعرفة الإتجاه.

٢-تماثل الورقة: (Homogeneity) :

فيجب وأن يكون فرخ الورق متجانس تماماً وخالي من أي مناطق ســميكة أو رقيقة كذلك تساوي كل الثقوب فـــي الحجـم والعـــدد/ بوصـــة مربعـــة (holiest & opaque inn clusis) ويمكن اختبارها سريعاً بوضعـــها أمـــام مصـــدر ضوئي ساطع والنظر لها.

٣-النقاء (Purity) :

فوجود شوائب بالورق تؤدي لصعوبات في تحديد المناطق الموجودة بـــها البقع (Masking zones) أو إفسادها أو يحدث تحليل لمتبقيات المركب المفصـــول خاصة في حالة عدم نقاوة الورق واحتوائه علي ايونات الحديديك (Fe^{3+}) أو النحاسيك (Cu^{2+}) والتي تكون معقـــد مـــع الـــورق عنـــد إضافـــة المذيـــب المطور(الطور المتحرك) أو بتعرضها للهواء الجوي بـــالمعمل والـــذي قـــد يحتوي علي كبرتيتد هيدروجين (H_2S) أو آثار لحمض الهيدروسـيانيك (HCN) أو غاز النشادر (NH_3) أو البوتاسيوم وهنا يجب غسل الـورق (Paper washing) قبل استخدامه بواسطة حمض نتريك مخفف أو حمض هيدروكلوريك مخفـف ومحلول مائي للمركب ٨-هيدروكسي كينولين مع ٠,٢فيرسين (إثيليـــن داي أمين تترا أستيك) وهيدرووكسيد صوديوم مخفف.

وتوجد عدة أنماط لمعاملة ورق الكروماتوجرافي منها :

١-ورق مطور (Modified filler paper) :

وذلك من خلال غمر ورق الكروماتوجرافي في محلول مادة ادمصاص معينة أو في محلول منظم (Buffer solutions) بغرض تغيير تركيبها السطحي حيث تغمر الورقة في محلول هيدروفيللي خاصة عند فصل الأحماض الأمينية أو المواد الحامضية أو القاعدية أو غمرها في محلول له درجة أس هيدروجيني (pH) معين بغرض الحصول والوصول لمعدل سريان (R_f) ما وبقع مضبوطة متمركزة.

وفي حالة استخدام نظام متحرك الغير ممترج فيرج جيداً ويترك في الفصل الطبيعي وتؤخذ طبيعة المنظم (Buffer) وتوضع بالكلية لتشتبع صفطها البخاري جو الكابينة.

أو قد تغمر الورقة في محاليل قطبية عالية كمحلول الفورمالدهيد أو محلول بروبلين جليكول أو قد تغمر في محاليل هيدروفوبية أو في محاليل السيليكون فتغطي الورقة بطبقة (Coated paper) وهنا يكون الوسط الثابت (الورق المغطي) ليبوفيللي وهنا يجب وأن يكون الطور المتحرك هيدروفيللي (قطبي) .

٢-ورق معامل كيميائياً (Chemical modified paper) :

حيث يحول سطح الورقة إلي حالة ليبوفيلية (Lypofilic) من خلال :

٢-١-عملية أستله (Acetylation) فيملأ مخبار بحمض الخليك الثلجي المحتوي علي ٥ % أندريد حمض الخليك ويترك في جو الغرفة يوم بليلة (over night) وهنا يحل محل المحلول محلول آخر ٢٢,٥ % أندريد حمض الخليك في خلات الأميل و ١,٨٦ % بيركلوريك في حمض الخليك بنسبة ١:٨ ويضاف حمض البيركلوريك ببطئ شديد مع التبريد بحيث تظل درجة الحرارة ٢٨-٢٩ °م وتترك الورقة فيه ٢-٣ ساعة ثم تزال وتغسل بماء بارد ثم تنقع في الميثانول وتجفف في جو الغرفة. ويكون محتوي الأستيل هنا حوالي ٢٦ % وزناً ويستخدم في فصل المواد الهيدروفوبية ومخاليط الأستيرويدات(Steroids) باستخدام النظام المتحرك بنزين: ميثانول: ماء (٤:٤:١) .

٢-٢-أما عند أكسدة الورق بواسطة (N_2O_2) تزداد مجاميع الكربوكسيل بالورقة مما يضيف إليه سعة مبدلة أيونية زائدة فتضل إلي ٥ % وهنا يستخدم الورق المؤكسد في فصل مخاليط الأحماض الأمينية والأمينات والأيونات الغير عضوية والألكالويدات.

وقد يتم غمر أو تغطيس الورقة (Impregnated) في محلول زيتي (البارافين) ويستخدم في فصل المكونات الهيدروفوبية كالليبيدات والأستر ويدات والفيتامينات والأمينات والمبيدات أو قد تغطس الورقة في محاليل قطبية لفصل المركبات الليبيوفيلية (القطبية) .

٣-ورقة محمل (Loaded paper) :

حيث يتم نشر (dispersion) مسحوق بودرة لمركب ما أو ألياف أو ريزن (resin) علي ورق السليليوز العادي مثل :

٣-١-ورق محمل بالسيليكا: (Loaded paper with Silica) ويستخدم هذا الورق في فصل المركبات الأقل قطبية أو الغير قطبية كالهيدروكربونات المكلورة العضوية والليبيدات والإستر ويدات والتربينات والصبغات النباتية والمبيدات الغيرقطبية وكذلك الأيودات الغير عضوية وتعطي هذه الورقة درجة فصل جيدة مرغوب فيها لا يمكن الحصول عليها بالورق العادي أو بإستخدام التفريد اللوني الدقيق (Thin layer chromatography : TLC) . و يستخدم في الفصل في إتجاهين (Two-Way Separation) بالأدمصاص الكروماتوجرافي في اتجاه واحد ثم بالتجزيئ الكروماتوجرافي في الاتجاه الآخر كما يمكن استخدامه مع مذيبات التجزيئ للفصل الصاعد السريع (Ascending chromatography) للمركبات القطبية .

٣-٢-ورق السيليكا جيل (Whatman SG 81, 22%) محمل علية سيليكا (SiO_2) .

٣-٣-وقد يحمل هيدروكسيد الألومنيوم علي الورقة (Whatman AH 81. 75%) وهنا يحتوي الورق علي أكسيد الومنيوم .

٣-٤-ورق محمل بالأيونات المبادلة (Paper loaded with Ion – Exchange) :

٣-٤-١-واتمان P281: وهو ورق فوسفات الســـليلوز (Cellulose. phosphate paper) وهو مبدل كاتيوني ثنـــائي المجموعـــة فيحتـــوي علـــي مجموعتين حامضتين احداهما قوية و الأخرى ضعيفة وصورته الأساســية هــي مونـــو أمونيوم (Mono amamonium).

٣-٤-٢-واتمان: CM 82: وهو كاربوكسي ميثيل ســـليلوز (Carboxy methyl cellulose) وهو مبدل كاتيوني حامضي ضعيف أحادي المجموعة الدالة (mono functional weekly acidic cation exchange) ويستخدم في فصل الأيونـــات الغــير عضوية والليبيدات.

٣-٤-٣-واتمان: AE. 81 : وهو ورق أمينو إيثيـــل ســليلوز (Aminoethyl Cellulose paper) وهو مبدل أنيوني وحيد المجموعـــة الدالـــة قـــاعدي (mono functional anionic exchange) واقصي نشاط له يكون عند أس تركـــيز أيـــون هيدروجين (pH) أقل من ٩ فهو مشتق إثيري فـــي صـــورة قـــاعدة حـــرة. ويستخدم في فصل الأيونات الغير عضوية والليبيدات والصبغات الغذائية.

٣-٤-٤-واتمان: DE 81: وهو ورق محمل بالداي إيثيل أمينو إيثيل ســـليلوز (Diethyl amino ethyl cellulose) فتوجد علي سطح الورق مجاميع أمين رباعيـــة وأقصي نشاط له يكون عند واقصي نشاط له يكون عنـــد أس تركـــيز أيـــون هيدروجين (pH) أقل من ١٠ ويستخدم فـــي فصـــل الأحمـــاض العضويـــة والأمينيـــة والبروتينـــات والإنزيمـــات والـــهورمونات والنيوكليوتيـــــدات والفيتامينات.

٣-٤-٥-واتمان: ET 81: وهو ورق يحمـــل بـــالإكتيولا ســـليلوز (Ecteola cellulose) ويحمل علي سطحه مجاميع أمين رباعية كما أن لها أكـــثر مـــن تركيب معقد نتيجة الارتباط (Cross – linked) وتستخدم في فصل الـــهورمونات والعقاقير والكربوهيدرات .

والأنواع الثلاثة الأخيرة (الورقة المحمل بمبدلات أنيونية) يحتاج لتنشـــيط بغسله بالكتروليت مائي (Aqueous Electrolyte) وباستخدام الطريقـــة الهابطـــة (Descending chromatography)

٣-٥-ورق محمل بمبدلات أنيونيـــة عضويـــة مخلقـــة (Paper loaded with : Synthetic Org. Ionic E.)

ويحتوي هذا النوع من الورق علي نســـبة تـتراوح بيـن ٤٥-٥٠ % بالوزن من (Micro pulverized ion Ex. Resin) مشتركا معة ألفـا سـليلوز ويتـم تجهيزها وتحويلها للصورة الأنيونية المطلوبة بغسلها أو نقعها (لتنشيطها) فـي محلول اليكتروليت مناسب ثم الغسيل بماء مقطر وتجفـــف ويســـمي (Reeve . Angle)

جدول رقم (٣-٨): صفات أشهر أربعة أنواع من الورق المحمل بالريزين والمواد التي يمكن فصلها عليه:

الصفة	نوع الورق تبعا لنوع الريزين (Resin)			
	SA 2	WA - 2	SB - 2	WB - 2
نوع الريزين ...	أمبيرليت Imberlite IR -- 120	أمبيرليت IRC – 50	أمبيرليت IRA – 400	أمبيرليت IR – 48
حامضية/ قاعدية...	حامض قوي	حامض ضعيف	قاعدي قوي	قاعدى ضعيف
% للريزين ...	50 – 45	50 – 45	50-45	50 – 45
صورته (R-Form)	Na^+	H^+	CL^-	$O\text{-}H^-$
لون الورقة...	بني مصفر فاتح	أبيض	كريمي	أصفر
سمكة....	14 مللم	14 مللم	14 مللم	14 مللم
تحمله للرطوبة	جيد	جيد	جيد	جيد
معدل السريان	سريع	سريع	سريع	سريع
ســعة تبادليـــة (meq/gm dry R)	4	10	3.3	10
المركبات التي يمكـــن فصلها عليها:	مضادات حيوية دهون الأكالويدات أحماض روديوم يورانيوم فاناديوم	الكالويدات أحماض للدهـــون أمينــــات أدريتالين سيتوكروم C انزيمات فلافونويد هيموجلوبين فيتامينات نحاس نيكل كوبلـــت مضادات حيوية	الكـــالويدات دهون أحماض مبيدات متحللـة مائيا رصـاص هيموجلوبين زنك فيتامينـات يودين يودات كرياتين بيروودات	أحماض دهون هيموجلوبين

٣-٦-ورق محمل بمبدلات أنيونية غير عضوية (Papers loaded with Inorganic Ion – Exchangers)

مثل الورق من النوع: موليبـــدو فوســـفات الأمونيـــوم (Ammonium molybdo phosphate) و فوســـــفات الزيركونيــــم (zirconium phosphate) و الأكسيدات (hydrous oxides)

٤-ورق الألياف الزجاجية (Papers of glass fiber) :

من النوع واتمان (Whatman GF81, 82, 83) وهو مفيد عند زيادة درجـــــات الحرارة والحموضة عندما يكون السيليلوز النقي غير مجـــدي ، فيمكـــن وأن يتعرض لدرجة حرارة حتى ٥٥٠°م دون تأثر ألياف الزجاج.

ويصنع من ألياف الزجاج البورسيليكات (Borsilicated glass fiber) ويتمـــيز هذا النوع من الورق أيضاً بأنه أقل أمصاص من السيليلوز وهنا يكون إزاحـــة المناطق الملونة سهل كذلك لا يذوب في المذيبات العضوية.

٢-الطور المتحرك (Un-stationary :Mobile phase) :

ويقوم الطور أو النظام المتحرك بتحريـــك المنـــاطق (Zons) أو البقـــع (Spots) أو الحزم (Bands) في حالة عملية التنقية (Clean up) للأمام وهـــو مـــا يسمي بعملية التطوير (Development) من خلال تنافسها علي المادة المدمصـــة من النظام الثابت فهو أقوي المذيبات وأقلها أمتصاصاً.

ويتكون الطور المتحرك من مذيب واحد أو أكثر من مذيـــب أي نظـــام مذيبات (Solvent system) غير تام المزج كالماء والبيوتانول أو الماء والزيلـــول وبنسب مختلفة مما يتسني معه الحصول علي درجات قطبية مختلفة ومتفاوتـــة ، جدول رقم (٣-٩) .

ويتحرك الطور المتحرك علي الورقة بالخاصة الشعرية (Capillary) غـــير الأنابيب الشعرية بالورقة والتي يتوقف علي كثافتها معدل الســـريان (Rate of flow R_f) .

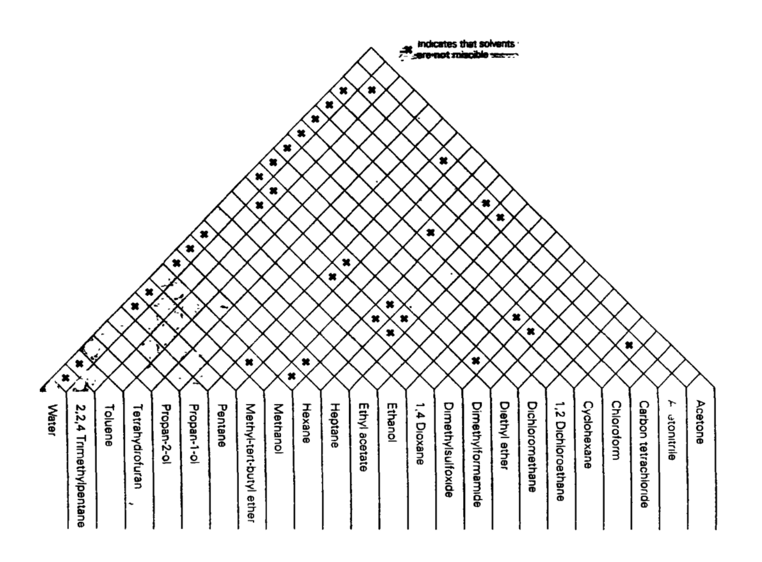
ويستخدم الطور المتحرك العالي القطبية مع المركبات العاليـــة القطبيـــة والعكس صحيح أما في الفصل المثالي فإن المركبات الأقل قطبية يكون لـــــها معدل سريان عالي ينخفض مع الزيادة في نقص قطبية الطور المتحرك.

يجب وأن يكون النظام المتحرك قادر علي فصل مكونـــات العينـة وأن يكون علي درجة عالية من النقاوة (Purity) والثبات (Stability) في الـــهواء أو عند خلطة مع مذيبات أخري : نظام مذيبات (Solvent systems) وغير متطـــاير نسبياً علاوة علي سهول إزالة متبقياته من الكروماتوجرام بعد تطويره ســـواء بنشرة في الهواء ليجف أو بالحرارة وذلك في حالة عـــدم تـــأثر المركبـــات المفصولة عليه وإن لم يتسني ذلك فيجب وأن تكون مخلفاته خاملة حتـــي لا تتفاعل مع الجواهر المظهرة (Chromogenic agents) .

والفصل في الأنظمة المذيبية ترجع أساســـا إلـــي التجـــزيء الإختيـــاري (Selective partitioning) لمكونات العينة بين سائلين النظام . والطور يمكـــن أن يعكس أو يرتد (Reversed) بحيث تستخدم الطبقة الأكثر قطبية كمذيـــب أمـــا الطبقة الأقل قطبية فتستخدم لغمر الورق فيها والتي غالباً ما تكون زيتية فبدلا من استخدام طور المذيبات الثنائي (2-phase solvents) يستخدم طور المذيبـــات المباشر (Direct – phase solvents) والمتكون من سائل عضوي يتـــم تشـــبيعه بمذيب أكثر قطبية كتشبيع الفينول بالماء .

ويتم اختيار مذيبات الطور المتحرك كما يلي :

- يتم فصل مكونات العينة القطبية في مذيب قطبي علي السليلوز الغـــير مطور أو الغير مغمور في سوائل قطبية.
- يتم فصل مكونات العينة الهيدروفوبية (Hydrophobic) بطـــور مذيبـــات مرتدة (Reversed phase system).
- قطبية المذيب الموجود بنظام مذيبات تتأثر بالمذيبات الأخرى الأكـــثر قطبية وهو ما يحدد في النهاية درجة حركة المذاب كما تتـــأثر حركتـــه بدرجة تركيز أس أيون الأيدروجين.



شكل رقم (٣-٢) : مدي قابلية بعض المذيبات للمزج

كما تشمل الأنظمة الإنزيمية الأنواع الثلاثة التالية :

- الطور المائي الثابت (Aqueous stationary phase):

حيث تشبع ورقة الكروماتوجرافي بالماء بنقعها (soaking) والتخلص من الماء الزائد بتبخيره أو تعريضها للهواء الجوي فيحدث أتزان بينها وبين الرطوبة الجوية بالمعمل أو بتعليقها داخل كابينة مشبعة ببخار الماء أو تغمس في محلول منظم مائي (Aqueous Buffer) ثم تجفف بنشرها لتتوازن رطوبتها مع الرطوبة الجوية . ويتم فصل المركبات الهيدروفيلية متوسطة القطبية باستخدام نظام مذيبات للتطوير كالأيزوبروبانول : أمونيا : ماء (٩ : ٢ : ١) أو البيوتانول العادي وحمض الخليك والماء (١٤ : ٥) حيث تؤخذ الطبقة العلوية منه ويشبع جو الكابينة بالطبقة المائية (الطبقة السفلية بقمع الفصل).

- مذيبات هيدروفيلية (قطبية) عضوية ثابتة (Stationary polar :Hydrophilic :Org. system)

وهنا وبالنسبة لمحاليل المذيبات الأقل تطايراً مثل داي ميثيل فورماميد (Dimethyl Formamide) فيتم سحب الورقة خلال السائل المذاب في المذيب المتطاير كالإيثيل أسيتات وتزال الزيادة منه بوضع الورقة المبللة بين ورقتين ويضغط عليها بعجلة (Roller) أو بنشرها فيتساقط الزائد ثم تنشر ليتبخر المذيب.

- مذيبات هيدروفوبية (غير قطبية) ثابتة: (Stationary Hydrophobic solvents)

حيث تستخدم أنظمة المذيبات المنعكسة أو المرتدة (Reversed–phase system) لفصل المذاب الهيدروفوبي حيث يتم سحب ورقة الكروماتوجرافي خلال محلول بتروليم إيثر أوالكيروسين أو زيت البرافين أو زيت السيليكون والمذاب في الهكسان أو البنزين ثم يبخر المذيب الزائد ويتم تطوير الورقة باستخدام مذيبات (نظام فصل) أكثر قطبية غير ممتزج (Im-miscible) مثل محلول الأيزوبروبانول ٧٠ % و داي ميثيل فورماميد - ميثانول والماء (١٠ : ١٠ : ١) أو محلول مائي لحمض الخليك . وغالباً ما يشيع الطور المتحرك بالطور الثابت قبل عملية التطوير أو السريان (Developing)

جدول رقم (٣-٩) :التدرج في درجة القطبية لبعض المذيبات.

POLARITY القطبية Increasing order (p)	
Solvent	**Polarity (p')**
Heptane	0.1
Hexane	0.1
Petroleum ether	0.1
2.2.4 Trimethylpentane	0.1
Cyclohexane	0.2
1-Chlorobutane	1.0
Carbon tetrachloride	1.6
Toluene	2.4
Methyl-tert-butyl ether	2.5
Benzene	2.7
Diethyl ether	2.8
Dichloromethane	3.1
Octan-1-ol	3.4
1.2 Dichloroethane	3.5
Propan-2-ol	3.9
Propan-1-ol	4.0
Tetrahydrofuran	4.0
Chloroform	4.1
Ethanol absolute	4.3
Ethyl acetate	4.4
1.4 Dioxane	4.8
Acetone	5.1
Methanol	5.1
Pyridine	5.3
2-Methoxyethanol	5.5
Acetonitrile	5.8
Acetic acid glacial	6.0
Dimethylformamide	6.4
Dimethylsulfoxide	7.2
Water	10.2

وما هو جدير بالذكر أنه يشترط في المذيب النموذجي المستخدم كطـور متحرك ما يلي :

١. أن تكون مكونات المذيب سهلة الحصول عليها بتكلفة بسيطة وعلـــي درجة كافية من النقاوة .
٢. أن يكون المذيب ثابت في الهواء وأيضاً عند خلطة بكميات صغـــيرة من أبخرة الحامض أو القلوي.
٣. ألا يكون المذيب أو مكوناته قابل للتطاير نسبياً.
٤. أن تسهل إزالته بسرعة من علي الكروماتوجرام .
٥. ألا يتفاعل مع المواد المظهرة للون.
٦. عدم تفاعله مع مكونات العينة.
٧. التجانس أثناء عملية الفصل تحت درجة حرارة ثابتة.

طرق التطوير أو الفصل (Development techniques) :

يتوقف استخدام أي من الطرق التالية تبعاً لنوع المركبات المراد فصلها:

١-الطريقة الهابطة (Descending development technique):

وفيها يتم سريان أو جريان النظام المتحرك من أعلي لأسـفل أي مـــع اتجاه الجاذبية الأرضية (by the force of Gravity) وفي نفس الوقت مـــع اتـــجاه الخاصة الشعرية لذا يكون معدل السريان أسرع وبالتالي تكون سرعة الفصــل سريعة عن الطريقة الأخرى الصاعدة ، شكل رقم (٣-٣) .

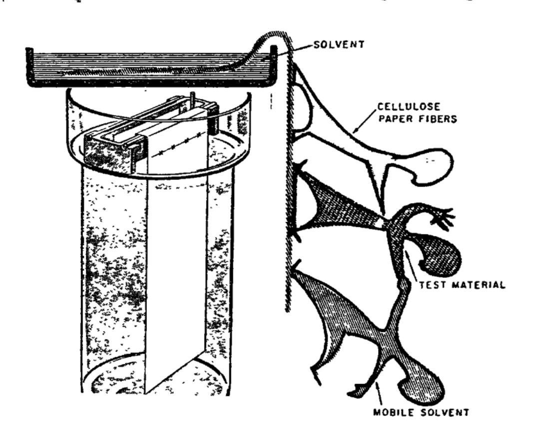
فبعد إتمام عملية التنقيط (Spotting) لمكونات العينة المراد فصل مكوناتـها أو لفصل مكون عن باقي مكونات العينة بغرض التنقية (Clean - up) وهنا يتم وضع العينة في صورة شريط (band) أو حزمة (stroke) وليست في صــــورة نقط صغيرة ليتسنى تنقية أكبر كمية ممكنة من المكون .

ويتم التنقيط باستخدام ماصة ميكروليترية (Micro liter pipette) سواء أكانت ماصة ميكروليترية يصعد السائل فيها من تلقاء نفسه (Self filling micro pipette) والتي تختلف أحجامها من ١ ميكروليتر إلي ١ ميكروليتر (١ ميكروليتر 1 U 1 = واحد لندا = 1λ = 0.001 ملل) وذلك بمجرد غمسها (immersed) يرتفع

سائل العينة تلقائيا بالخاصة الشعرية حتى العلامة التي توضح حجم الماصة.

وفي نفس الوقت بمجرد ملامسة طرف هـــذه الماصـــة الميكروليترية لسطح ورقة الكروماتوجرافي يبدأ السائل في النزول من تلقاء نفسه في مكـان العينة . ويراعي تبخير السائل المذاب فيها العينة باستخدام مجفـــف الشـــعر (Hair dryer) أو بتيار هادي من الهواء (air – stream) وبعد إتمام عملية التنقيط تغسل الماصة جيداً حتى لا ينسد ثقبها وذلك بالماء والصابون الدافئ ثم بالماء المقطر والأسيتون ويجفف أخيراً بالهواء. ويوجد ماصات أخرى لأخذ أحجـام أكبر من السابقة (٢٥ - ٥٠ ميكروليتر) كما توجـد ماصـات ميكروليترية أوتوماتيكية متدرجة الأحجام . وقد يتم التنقيط باستخدام حقنـه ميكروليترية ويوصي بها للتحكم بواسطة الحاقن في خروج دفعة السائل المراد تنقيطه.

ويتم التنقيط في صورة نقط صغيرة لا يتجاوز قطرها في ٢ مللم علي خط وهمي يسمي بخط البداية (Start Line) وبعيد من حافة الورقة السـفلية تقريبـاً بثلاثة لأربعة سنتيمترات كما تبعد كل نقطة عن الأخرى بحوالي ٣-٥ سم.



<u>شكل رقم (٣-٣)</u>:تخطيط يوضح طبيعة الفصل بالطريقة الهابطة :

ويتم غمس طرف الورقة القريب من خط البداية في أناء المنيب (Trough) والمثبت بأعلى الكابينة (Tank) ويحتوي علي النظام المتحرك في وضع أفقـي تماماً حتى لا تتأثر قيمة معدل السريان (R_f) وتكون المنطقة المنغمسـة فـي النظام بعيدة عن خط البداية حتي لا تتلامس نقط العينة مع مذيبـات الوسـط المتحرك فتذوب به فيتلوث الإناء وبالتالي تنتشر النقط في كل مساحة الورقـة وتفشل عملية التطوير (Developing) وهنا يظهر الفصل كشريط متصل (وليس متقطع في صورة نقط).

يتم قفل الكابينة جيداً وبأحكام لإحكام الضغط البخاري للمنيبات بالنظـام المتحرك حتى يتم التوازن فيعطي فصل جيد حاد للبقع .

وبعد فترة مناسبة ووصول النظام المتحرك الهابط لأسفل لقـرب خـط النهاية (Front Line) ترفع الورقة من الكابينة ويطلق عليها حينئذ كروماتوجرام (Chromatogram) ثم تجفف بالهواء البارد أو الساخن أو توضع بفرن إسـتعداداً لعملية الإظهار من خلال رشها بالجواهر المظهرة أو الملونة (Chromogenic agents) . ويتم إظهار البقع (Detection) من خلال رش الكروماتوجرام بـالمواد المظهرة برشاشة خاصة (Atomizer) ويراعي في المادة المظهرة المسـتخدمة أن تزداد الكثافة الضوئية للبقعة المتكونة منها بزيادة التركيز وهي أما ؛

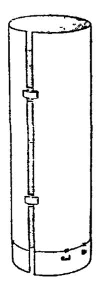
- تتفاعل مع إحدى المجاميع الدالة بمكون العينة فتعطي لون مميز .
- أو يكون ناتج التفاعل ذو درجة تركيز أيون هيدروجين معين يمكـن إظهاره بالدلائل (Indicators).
- أو قد يتم إظهار البقعة من خلال تعريـض الكرومـاتوجرام للأشـعة الفوق بنفسيجية والتي تجعل العديد مـن المركبـات يتـألق فلوروسـنتيا (Fluorescence) وقد يتطلب ذلك تعريض المكان المحتمل فيه وجود البقـع إلي تراي كلور أستيك ثم الأشعة الفوق بنفسجية فتظهر بلون بقـع بنيـة مصفرة أو بلون لامع متألق
- أو قد ترش بصبغات ملونة من خلال تفاعل اختزالي .
- أو باستخدام إنزيمات نشطة .
- أو بإستخدام مواد أشعاعية (Radio active materials) ثـم يتـم تتبعـها بجهاز (Radio autogram) .

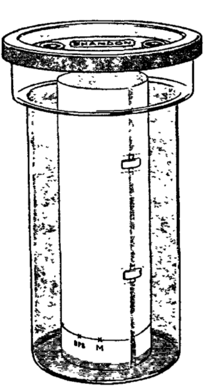
ومن ثم يتم حساب قيمة معدل السريان (Rate of flow : R_F)

٢-الطريقة الصاعدة (Ascending development technique) :

وفيها يتم سريان أو جريان الطور المتحرك من أسفل لأعلي وتتسم عملية التطوير هنا (Developing) ببطئها عن سابقتها حيث يكون اتجاه سريان الطور المتحرك في اتجاه مضاد للجاذبية الأرضية وعلية يكون صعوده علي الورقة بفعل الخاصة الشعرية فقط (Capillary) ، شكل رقم (٣-٤).

وبعد إتمام عملية التنقيط كما سبق يغمس طرف الورقة القريب من الخط البداية الوهمي (Start line) بالإناء (Trough) الموضوع فيه الطور المتحرك في أسفل الكابينة (Tank) حيث تعلق الورقة من طرفها العلوي بقمة الكابينة ثم يتم قفلها بأحكام للمحافظة علي الضغط البخاري، وبارتفاع سطح الطور المتحرك للمستوي المناسب علي الورقة، ترفع من الكابينة ويعلم علي المستوى ثم تجفف وهنا يصبح الكروماتوجرام معد لعملية الإظهار (Detection) برشه بالجواهر الكشافة.

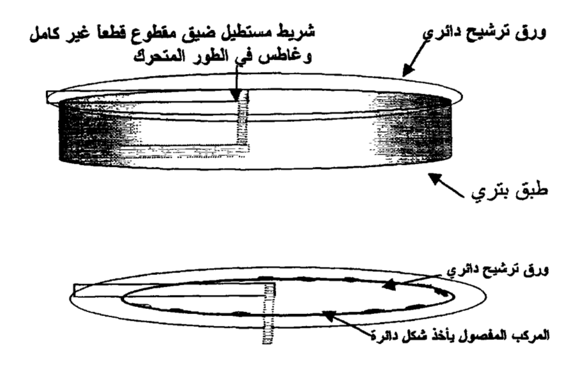




شكل رقم (٣-٤): الطريقة الصاعدة

٣-الطريقة المركزية: الشعاعية (Radial Develop technique) :

وهنا تكون ورقة الكروماتوجرافي في شكل دائري (مستدير) مثـل ورق الترشيح وتتم عملية التنقيط في مركز الدائرة وتوضع علي حافة الطبق بحيث يماثل محيط العينة الخارجي لمحيط الخارجي للطبق البتري والموضوع فيـه النظام المتحرك ثم يوضع طرف خيط رفيع في الطور المتحرك بينمـا يمـر الطرف الآخر في مركز الورقة (مركز البقعة) وقد يسـتبدل الخيـط بقطـع شريط ضيق يمتد من محيط الورقة وحتي قرب المركز (قرب البقعة) وهنـا يرتفع المذيب من الطبق عن طريق الخاصية الشعرية خلال الخيط أو شـريط الورق حتي مركز البقعة وينشر بعد ذلك دائرياً في جميع الاتجاهات في شكل دوائر كل دائرة منفصلة عن الأخرى وتعبر كل دائرة عن أحدى المكونـات المفصول بها ويتميز بأنها تستغرق وقت قصير ، شكل رقم (٣-٥).



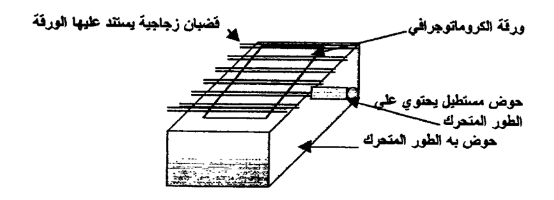
شكل رقم (٣-٥): الطريقة المركزية (الشعاعية)

٤-الفصل أو التطوير الأفقي (Horizontal Development technique)

وهنا يتم وضع ورقة الكروماتوجرافي التي تم تنقيطها بمكـــون العينـــة (Spotting) علي قضبان زجاجية مثبتة في وضع أفقي علي حافة أطار داخلـــي لكبينة كروماتوجرافي.

حيث يتم غمس طرف الورقة القريب من خط البدايـــة (Start line) فـــي الوعاء (Trough) الموضوع به النظام المتحرك ، شكل رقم (٣-٦).

ويتم هنا وضع لوحين من الزجاج أسفل وأعلي ورقة الكرومـــاتوجرافي لذا تفيد هذه الطريقة في فصل المركبات المتطايرة (Volatized) فلوحي الزجاج الموضوع بينها ورقة الكروماتوجرافي بنفس أتساع الورقة كمـــا أن لوجـــود لوحي الزجاج بهذه الطريقة يمكن فيها أجراء الفصل (التطوير) في درجـــات حرارة مختلفة سواء بوضعه في حضانـــة (Incubator) أو بثلاجـــة أي يمكـــن الفصل في درجات تتراوح بين ٤٥-٦٥ م .



شكل رقم (٣-٦): التطوير الأفقي

كما أن وجود الورقة بين لوحي الزجاج يزيد من سرعة الفصل لوجـــود خاصية الجذب السطحي للزجاج بجانب الخاصة الشعرية وهنا تكـــون قـــوة الجذب السطحي متضاعفة فهي ناتجة من كلا الجانبين لوجود لوحي الزجـــاج علاوة علي أن الحركة الأفقية تكون أسرع من الحركة الرأسية خاصة إذا مــا كان وفي اتجاه مضاد لقوة الجاذبية الأرضية فالمذيب بالطور المتحرك يصعد مسافة حوالي ٥سم فقط ضد الجاذبية الأرضية بعدها يكون حركته أفقية.

٥-الفصل المتعدد (Multiple development chromatography)

وهنا يتم سريان الطـــور المتحـــرك (Mobile phase) علـــي ورقـــة الكروماتوجرافي عدة مرات علي نفس الورقة : فبعد تمام أجـــراء التطويـــر الأول يجفف الكروماتوجرام (Chromatogram) ثم يعاد تطويره مـــرة أخـــري سواء أكان بإستخدام نفس الطور المتحرك أو باستخدام طور آخر يختلف عنه في درجة قطبية وذلك بهدف الوصول والحصول علي أكفأ تطوير وأحســـن فصل خاصة لمكونات عينة مركباتها ذات قيم معدل سريان متقاربة القيم .

أي أنها عدة تطويرات كلها بنفس الورقة وعلي نفـــس اتجـــاه الفصـــل (Separation direction) وبنفس الطور المتحرك للحصول علـــي أكـــبر فصـــل ممكن .

فإذا كانت وعلي سبيل المثال المسافتين مركبين F1 , F2 تم فصلها مـــن خلال التطوير الأول فإنها سوف تزيد في التطوير الثاني في المعادلة التاليـــة تعطي أنسب عدد لمرات التطوير: (η-optimization):

أمثل عدد مرات التطوير(optim)

= لو $(R_{f2}-1)$ ÷ لو $(R_{f1}-1)$ / لو $(R_{f1}-1)$ ÷ لو $(R_{f2}-1)$

حيث أن : F_1 للمركب > F_2 للمركب الثاني

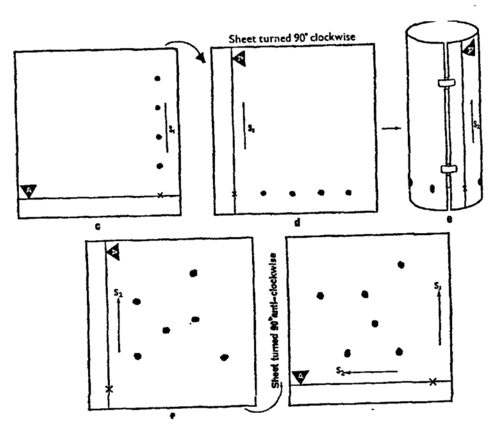
: $1 > R_{f2} - R_{f1}$

٦–الفصل في اتجاهين متعامدين(Two–Dimentional Chromatography : 2-TD) :

في طرق الفصل السابقة يكون الفصل في اتجاه واحد (one–dimentional) مع الجاذبية أو ضد الجاذبية الأرضية وعملية يمكن فصل أكثر مـــن عينـــة (بقعة spot علي نفس الورقة الواحدة.

أما الفصل في اتجاهين: فيتم الفصل أولاً بإحدى الطرق الســـابقة ولكـــن بتنقيط عينة واحدة فقط في احـــدى أركـــان الورقـــة (Corner spotting) ويتـــم تطويرها بإحدى النظم السابقة ونحصل علي كروماتوجرام يتم تجفيفه .

يتم الفصل الثاني (2_{nd} development) بتحريك الورقة ٩٠ ° ويتـــم تطويـــر الورقة سواء بإستخدام نفس الطور المتحرك المستخدم في التطويـــر الأول أو بإستخدام بنظام فصل آخر (طور متحرك آخر) وذلك بغرض زيـــادة كفـــاءة الفصل خاصة مع المكونات المتقاربة من حيث قيم معدل سريانها (R_F) لـــها كما أنه لا يمكن تنقيط أكثر من بقعة واحدة بالورقة ، شكل رقم (٣–٧) .



شكل رقم (٣–٧):الفصل في اتجاهين متعامدين

المواد المظهرة للورق (Chromogenic agents)

وهي المواد أو الجواهر الكشافة التي تطبق علي الكروماتوجرام الجاف بعد عملية الفصل أو التصعيد حتى يمكن تحديد أماكن المواد المفصولة حيث تحتوي هذه المواد علي الكيميائيات النقية التي تتفاعل مع المركب المفصول أو مجموعة دالة معينة بالمركب لإعطاء لون معين ويشترط في المادة الملونة ما يلي :

- أن تكون رخيصة الثمن .
- أن تكون ثابتة سواء بالاستخدام الفردي أو مخلوطة بنظام مذيبي معين
- أن تتفاعل بسرعة مع المركبات المفصولة وخاصة علي البارد .
- ألا تتفاعل مع المذيب المتبقي علي الورقة .
- ألا ينطلق منها أدخنة أو تحدث تآكلات إذا كان لابد من التسخين لإظهار واللون .
- أن تكون ذات مقدرة علي النقع إذا تتطلب الأمر الإظهار بالغمر كما سيأتي فيما بعد.
- ألا تسبب آية أضرار علي الصحة العامة.

طرق الإظهار(Visualization methods) :

يجب أن يكون الإظهار النموذجي للكروماتوجرام قادراً علي إظهار الكميات القليلة جداً من المواد المفصولة علي اعطاء مساحة مرئية مستقرة الظهور وذات ثبات مناسب لإعطاء فرصة للقياسات الكمية إذا تتطلب الأمر ذلك . وتتنوع طرق الإظهار الخاصة بالكروماتوجرامات (Chromatograms) الورقية فهي إما :

١-طرق إظهار كيميائية (Chemical detection methods)

فعند تجفيف الكروماتوجرام يتم إظهار البقع من خلال معاملات كيميائية مختلفة تعتمد علي تفاعل جواهر كشافة للون (Chromogenic agents) مع محتوي المكون المفصول في هذه البقعة فيعطي لوناً مميزاً أو ضوءاً فلوروسينيا فعلي سبيل المثال يستخدم محلول [(٠,١ جم نترات فضة/١ مل ماء) + (٢٠ مل ٢- فينوكسي إيثانول) + (١٨٩ مل أسيتون) + (نقطة من

فوق أكير الهيدروجين)] لإظهار الهيدروكربونات الكلورونية مع مراعاة حفظ المحلول في الظلام وأن يكون حديث التحضير لايمضي عليه أكثر من ٤أيام.

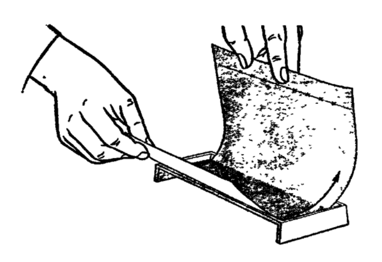
وهناك الطرق المتخصصة لبعض المركبات كما في حالة المبيد الكرباماتي سيفين حيث يرش الكروماتوجرام أولاً بالبوتاس الكاوية الكحولية ثم بملح الديازونيم (Diazonium salt) فيظهر المركب المفصول بلون أزرق .

وتتم معاملة الكروماتوجرام بالجواهر المظهرة بإحدى الطرق التالية :

١-١-الغمر (Dipping) :

وذلك يغمر الكروماتوجرام في محلول المواد المطهرة خاصة إذا ما كان الكروماتوجرام في صورة شريط (Sheet) أو شرائط رقيقة (Strips) .

وتتميز هذه الطريقة بسهولتها وتجانسها من حيث انتظام توزيع الصيغة علي كل سطحي الكروماتوجرام كما يتفادى القائم بالعمل تطاير رذاذ مثل هذه المواد المظهرة أثناء رشها بالهواء (Drift) فتضر بالصحة العامة (Public Health) فهي مواد مؤذية (noxious) علاوة علي اقتصادية هذه الطريقة حيث يمكن غمر أكثر من كروماتوجرام في المحلول المتبقي كذلك تتميز بسرعة ظهور البقع سريعاً وبوضوح أشد . ويتم الغمر بسحب (Slipping) الكروماتوجرامي في وعاء المادة المظهرة حيث يوضع أعلي الكروماتوجرام قضيب زجاجي كثقل يمر أسفله الكروماتوجرام ، شكل رقم (٣-٨).

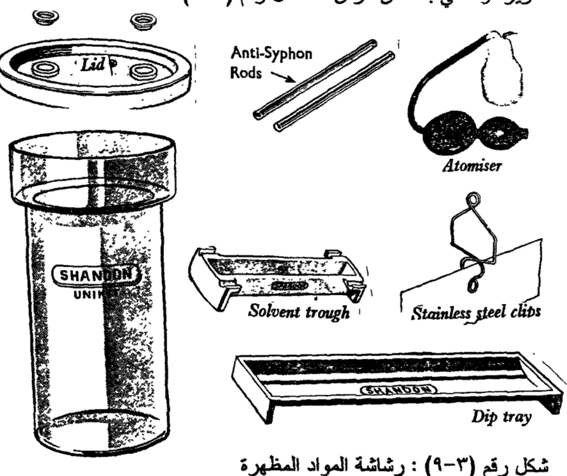


شكل رقم (٣-٨) :كيفية سحب الكروماتوجرام في وعاء المظهر

وقد تستخدم أسطوانتين من الإسفنج الطري (Soft) تدوران حول محورهما الطولي وفي اتجاهين متعاكسين ويمر بينهما الكروماتوجرام وتكون كلتا الأسطوانتين مشبعتين بالمظهر .

١-٢-الرش (Spraying):

حيث تستخدم رشاشة زجاجية خاصة (Glass continuous Atomizer) يوصل إليها الهواء المضغوط وقد تتصل ببصلة كاوتشوك (Rubber bulb) بالضغط عليها يخرج منها الهواء للرشاشة فيضغط علي سطح المظهر فيخرج من أنبوبة شعرية رقيقة السائل المظهر بهيئة رذاذ دقيق جداً يغطي الكروماتوجرام بإنتظام أو قد يكون مصدر الهواء أسطوانة صغيرة معبأ بها هواء مضغوط عند الضغط عليها يسمح بخروج الهواء المضغوط ماراً فوق أنبوبة شعرية دقيقة يصعد فيها السائل المظهر فيتصادم مع الهواء فيتم تذريره وتسمي بمسدس الرش ، شكل رقم (٣-٩) .



شكل رقم (٣-٩) : رشاشة المواد المظهرة

ونجد أنه يفضل طريقة غمر الكروماتوجرام عن طريقة الرش للأسباب التالية :

- لا يحتاج فيها إلي خزانة الغازات كما في عملية الرش والتي قد ينتج عنها رذاذ و أبخرة مهيجة وقد يكون لها تأثير سام .
- لا تحتاج إلي وسائل الرش مكلفة.
- طريقة الغمر طريقة اقتصادية في الجواهر الكشافة خاصة إذا كان هناك عدد كبير من الكروماتوجرامات .
- التجانس علي سطح الكروماتوجرام.
- خلفية متجانسة للكروماتوجرام وجفاف سريع خاصة إذا ما أستخدم الاسيتون أو غيرة من المذيبات المتطايرة. في حين استخدام هذه المذيبات المتطايرة في الرش لها أضرارها .
- ظهور اللون بسرعة وذو كثافة عالية وثابت لحد كبير خاصة لو كان الأسيتون هو المذيب المستخدم لإذابة الجوهر الكشاف.

١-٣-إضافة المظهر للطور المتحرك :

حيث يضاف الجوهر الكشاف المستخدم في الإظهار (detection) إلي المذيبات المستخدمة في تطوير (developing) الكروماتوجرام وهنا يتم صبغ (Stain) المكون المفصول بالصبغة عند بدء ملامسة الطور المتحرك لمكان التنقيط (Spotting) حيث تتفاعل المجموعة الدالة المميزة بمكون البقعة مع الجوهر الكشاف وهنا تكون البقعة أثناء حركتها أو تطويرها مرئية من خلال الجدران الزجاجية للكابينة .

٢-طرق إظهار طبيعية (Physical detection Method):

الكثير من المركبات والمواد العضوية تمتص الأشعة فوق البنفسجية عند مدي بين ٢٦٠ – ٢٤٠ ملليميكرون فتظهر كمنطقة أو بقعة مظلمة يمكن تحديدها بقلم رصاص .

أوقد يرش الكروماتوجرام بمحلول فلوروسين وهنا تزداد خلفية الكروماتوجرام تألق تحت الأشعة وبالتالي تظهر البقعة أكثر تعتماً وأوضح. أو قد يستخدم ورق الطباعة الأزرق (Blue print paper) .

كذلك فكثير من المواد العضوية تتألق بالأشعة الفوق بنفسجية عند المدى ٣٦٠ ملليميكرون خاصة إذا ما سخن الكروماتوجرام وقد يتم الإظهار عن طريق رش الكروماتوجرام بمحلول من ٢،٥-داي فينيل أوكسازول (2,5-diphenyl oxazole : Scintillator) ثم يجفف الكروماتوجرام ويعرض للأشعة فوق البنفسجية فتظهر البقعة بلون فلوروسنتي متألق.

٣-طرق إظهار بالمركبات المشعة (Radio active compounds):

وهنا يمكن تحديد أماكن البقع (Spots) إشعاعيا بواسطته جهاز (Auto radiography)

٤-طرق إظهار حيوية (Biological detection methods):

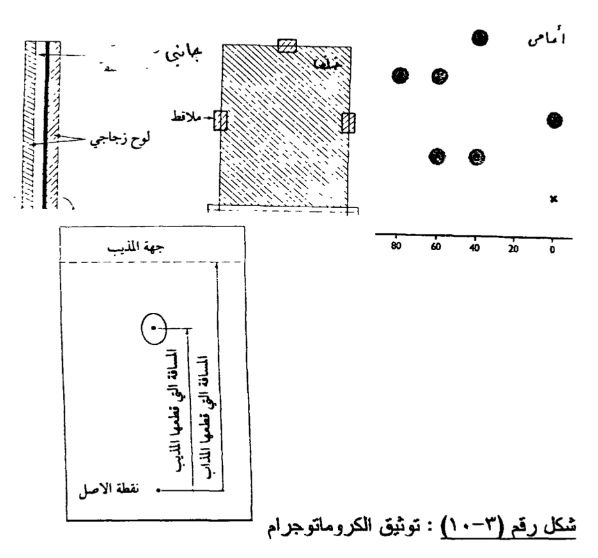
وتبني فكرتها علي تثبيط أنزيمات معينة (Enzyme inhibition) بالجسم حيث يرش الكروماتوجرام بعد تجفيفه بمستخلص الإنزيم ومادة تفاعله الأساسية ثم ترش جواهر كشافة معينة سواء كانت تفاعل مع مادة تفاعل الأنزيم والتي لم يحللها لتثبيطه أو تتفاعل مع خلفية الكروماتوجرام حيث توجد جزئيات الإنزيم الغير مثبطة كما يحدث مع أنزيم الكولين استيريز (Cholinesterase enzyme) وجزئيات السموم الفوسفورية العضوية والكرباماتية العضوية والتي تثبط هذا الإنزيم.

فعلي سبيل المثال إستعمال أزرق البروموثيمول كمادة مظهرة يؤدي لظهور مواقع التثبيط علي الكروماتوجرام باللون الأزرق أما الخلفية فتظهر صفراء نتيجة لعدم تثبيط الأنزيم بها وتفاعلع مع جوهر الكشاف.

كما أن هناك بعض الكشافات يزال لونها في وجود أي حمض ينتج من مادة التفاعل نتيجة تحللها بواسطة الإنزيم والتي لم يثبط بواسطة السم الفوسفوري أو الكارباماتي أي أنه في هذه الحالة تكون خلفية مادة التفاعل عديمة اللون نتيجة تحللها بالانزيم وانفراد حمض الخليك بينها تظهر بقعة تثبيط الأنزيم بالسم ملونة نتيجة لتفاعل مادة التفاعل مع الجوهر.

توثيق الكروماتوجرام (Documenting the chromatogram)

يجري ملاحظة الكروماتوجرام بعد عمليات الإظهار السابقة الذكر حيث يمكن وضع علامات دائرية بالقلم الرصاص في الحال حول مواضع البقع المطلوبة ولكن نظراً لأنه من الصعب وضع ملاحظات تعبر عن اللون والكثافة اللونية فإنه يمكن استعمال خريطة للألوان القياسية للمساعدة في تحديد الألوان وبعد ملاحظة مواضع البقع وألوانها يتم قياس قيم معدل قيم السريان R_F أو قيم hR_F $(R_f \times 100)$ ثم يتم بعدها تصوير الكروماتوجرام حيث يعتبر التصوير من الطرق المفضلة لتوثيق الكروماتوجرام ، شكل رقم (٣-١٠).



شكل رقم (٣-١٠) : توثيق الكروماتوجرام

التحليلات الوصفية والكمية (Qualitative and Quantitative analysis):

بإستعراض الطرق السابقة الذكر والتي يمكن بها فصل مكونات مخلوط بغرض تعريفها نوعياً (Qualitative analysis) وذلك بجانب إستخدمها أيضاً في تنقية مكون معين أو ممثلاثة من مستخلصي يحتوي علي العديد من المركبات الأخرى المتداخلة معه و يتأتي ذلك من خلال قياس قيم معدل السريان لكل مركب من المركبات المفصولة ومقارنتها بقيم معدل السريان لمركبات قياسية (Standards) ومن هنا يمكن التعريف (Identification) أو التحليل النوعي أو الوصفي لهذه المكونات (Qualitative analysis) :

معدل السريان(R_f) = المسافة التي تحركها المركب من خط البداية حتى مركز البقعة / المسافة التي تحركها المذيب من خط البداية حيى خط النهاية

وهذه القيمة تكون أقل من الواحد الصحيح ولذا في بعض الحالات تضرب هذه القيمة في ١٠٠ ويعبر عنها ب **hRf** =[(R_f) x 100]

كما أنه في بعض الحالات الأخرى يمكن التعبير عن مواضع المواد المفصولة بقيمة نسبية لها (Relative Rate of flow : RR_f) بالنسبة لموضع مادة أخري قياسية (x) وفي هذه الحالة قد تكون قيمته أكبر من الواحد الصحيح

معدل السريان النسبي RR_f =

المسافة التي تحركها المركب من خط البداية حتى مركز البقعة / المسافة التي تحركها المركب القياسي من خط البداية حتى مركز البقعة

وفي هذه الحالة تم فصل وتعريف عدد كبير من المركبات ثم اختير أقلها في قيمة معدل السريان واعتبارها الأساس الذي ينسب إلية باقي قيم معدل السريان تحت ظروف معملية ثابتة ومن ثم تم الحصول علي جداول تحوي قيم معدل السريان (RR_f) للعديد من مركبات السموم العضوية.

ويمكن تقدير كل مكون مسبق فصلة (Separation) وتعريف أوتسميته (Identification) تقديراً كمياً (Quantitative analysis) من خلال عدة طرق :

- يتم قطع البقعة علي حدودها المحيطية الخارجية ويتم استخلاصها (Extracted) بمذيب مناسب حيث يستخلص اللون المتكون والناتج من تفاعل جزئيات (تركيز) مكون البقعة مع الجوهر الكشاف ثم يتم تقدير الكثافة الضوئية لهذا اللون (Optical density) حيث تترجم الكثافة الضوئية

بعد ذلك إلي تركيز من خلال منحني قياسي (Standard : Calibration curve) لهذا المكون وبتركيزات متدرجة مع نفس الجوهـــر الكشــاف بطريقـــة مباشرة (Direct method) أي من علي المنحني مباشرة أو بطريقـــة غـــير مباشرة بقسمة الكثافة الضوئية (O-D) علي الثابت العـــام لمنحنـــي هـــذا المكون (المركب) بالبقعة.

- أو يتم قياس مساحة البقعة باستخدام بلانيمتر (Planimeter) وهنا نحصل علي مساحة البقعة (Spot area) والتي تترجم إلي تركيز من خلال منحنـــي قياسي يربط بين مساحة البقع الناتجة من عدة تركيزات متدرجـــة وهـــذه التركيزات ، وتترجم المساحة مباشرة من علي المنحنـــــي أو باســـتخدام الثابت العام (K`) .

- أو قد يعامل الكروماتوجرام بالجليسرين فيتحول الكروماتوجرام لشـــبه منفذ للضوء (Semitransparent) وهنا يمرر الكروماتوجرام بعد تجفيفه علي جهاز قياس الكثافة (Densimeter) فيحول الكثافة اللونيـــة بالبقعـــة نتيجـــة مرور شعاع ضوئي ذو طول موجي مناسب للون المتكون خلال البقعـــة ويخرج إلي خلية ضوئية تعطي قراءة الامتصاص أو النفاذ (Absorption or transmitting) ثم تترجم القراءة الناتجة بطريقة مباشرة أو غير مباشـــرة لتركيز من خلال عمل منحني قياسي لعدة تركيزات متدرجة وكثافة البقـــع والتي يتم قراءة امتصاصها أو نفاذها الضوئي علي نفس الجهاز.

العوامل المؤثرة علي قيم معدل السريان :

١-الوزن الجزئي للمركب المفصول:

حيث تنفصل المركبات ذات الوزن الجـــزيء المنخفـض بســـرعة عـــن المركبات ذات الوزن الجزئي الكبير وذلك نتيجة صفر طاقتها الحركية .

٢-درجة إدمتصاص المركب علي سيليلوز الورق:

حيث يميل الورق لإدمتصاص المركبات الأكثر قطبية والعكس صحيح.

٣-درجة ذوبانية المركب بكل من الطورين:
فالمذيبات القطبية تذيب المكونات القطبية وتفصل علي مادة إدمتصـــــاص غير قطبية والعكس صحيح .
٤-طبيعية الورق المستخدم :
نجد أن المذيب يتحرك بسرعة كبيرة علي الورق السميك عنه في حالــــة الورق الرقيق وكذلك بسرعة في الورق ذو النسيج المفتوح عنه ثـــم الـــورق المصقول. كما يؤثر الشكل الهندسي للورق سواء أكان مربـــــع أو مســـتطيل علي معدل السريان . كما أن معدل السريان في اتجـــاه الخاصيـــة الشـــعرية أسرع من الاتجاه المضاد بها .

٥-طريقة تجهيز الورق ومعاملته المتجانسة قبل تطويره يعطي سريان منتظم وسرعة في الفصل .

٥- طريقة الفصل المستخدمة:
لاتجاه التطوير أو السريان أثرة سواء أكان صاعد أو هابط أو أفقي حيـــث تقل قيم معدل السريان بالطريقة الصاعدة لكون حركة الطور المتحرك ضـــد الجاذبية الأرضية وذلك عن معدل السريان بالطريقة الهابطة والتي يكون فيها حركة الطور المتحرك مع تأثير الجاذبية و الخاصة الشعرية .

٦-التغير في تركيب النظام المتحرك أثناء الفصل:
يؤدي التغير في تركيب النظام المتحرك أثناء الفصل إلي إعطاء قيم معـــدل سريان لا تدل عن المكون المفصول وهنا فلا بد وأن يأخذ في الاعتبار درجة نقاوة وصلاحية المذيبات المستخدمة في التطوير ودقة نسب المزج إذا أستوي الفصل استخدام أكثر من مذيب في عملية التطوير.

٧-حدوث الاتزان قبل وأثناء التطوير أو السريان:
فتشبيع جو الكابينة بأبخرة النظام المستخدم وذلك قبل وضع الورقة بـــــها يؤدي إلي سرعة الفصل وكفاءته ،كذلك لدرجة الرطوبـــة والضغـــط داخـــل الكابينة تأثيره .

٨-زيادة تركيز المذاب:
حيث يؤدي زيادة تركيز المذاب (البقعة) يؤدي لإنخفاض معدل السريان خاصة بأنظمة الامتصاص عن أنظمة التجزيئ .

٩-درجة الحرارة:
حيث أن ارتفاع درجة حرارة المعمل والوسط المحيط بالكابينة يؤدي إلي زيادة قيمة معدل السريان لتأثيرها علي لزوجة المذيبات بالانخفاض حتى حد معين إذا زادت عنه يؤدي إرتفاعها لإختلاف في درجة ذوبان المكونات بالعينة فيؤدي لاختلاف في معامل التجزيئ مما يتبعه اختلاف في معدل السريان فتتكون مناطق منضغطة.

١٠-تأثير تركيز أس أيون الهيدروجين (pH) :
حيث يتأثر معدل السريان بالمواد المتأنية في النظام المستخدم .

١١-تقليل المسافة ما أمكن بين خط البداية وسطح المذيب حتي لا يقلل معدل السريان.

١٢-طول فترة التطوير (ارتفاع المسافة المتحركة).

وما هو جدير بالذكر أن تثبيت العوامل السابقة الذكر أثناء عملية التطوير يؤدي لإستعادة النتائج مرة أخرى (Reproducibility) لو تكرر الفصل أكثر من مرة . ولا غرابة أن نجد القيم الخاصة بمعدل السريان تختلف من باحث لأخر لنفس المادة وسبب هذا الاختلاف يرجع إلي عدم وصف النظام الكروماتوجرافي تماما والمتضمن :

- أبعاد الكابينة أو التنك المعد للفصل.
- نوع الورق ودرجته.
- اتجاه الفصل والنظام المذيبي المستخدم والمسافة التي تحول إليها.
- الحجم المستخدم من المذيب وتركيبة ومواصفاته.
- أي مواد سائلة أو أبخرة أدخلت علي النظام لتحقيق أهداف معينة.

- وقت الاتزان إذا وجد.
- درجة الحرارة.
- طبيعية المخلوط المراد فصله كروماتوجرافياً والمعـــاملات الســابقة عليه.

بعض الظواهر بالكروماتوجرام بعد إجراء التطوير والإظهار:

١-ظهور بقعة غير مستديرة (مفلطحة) :
حيث يلاحظ عند تطوير الأحماض والقواعد العضوية بمذيبات متعادلـــة إعطاء بقعة غير مستديرة وذلك لحدث تأثير للمركب كما أن بعض القلويــدات والقواعد الضعيفة تكون بقع مستطيلة وأيضاً فإن وجود حمض الفورميل فـــي النظام المتحرك يزيد من التأثير للأحماض الثنائية والعديدة الهيدروكسيل.
ولمنع انتشار التفلطح يجب وأن يكون حجم البقعـــة التـــي يتـــم عليـــها التطوير صغيرة بقدر الإمكان كما قد يستدعي الأمر إضافة بعض الاحمـــاض للطور المتحرك لمنع التأثير.

٢-تزييل البقعة (Tailing) :
ويعني ظهور ذيل بنهاية البقعة سواء علي أنظمة الادمصاص أو التجزيئ وذلك نتيجة سرعة المذيب أو حدوث تغير غير عكسي في تركيـــب المـــذاب خلال هجرته وتفاعله علي المذيب أو نتيجة لحدوث ادمصاص قوي وعمومـــا لمنع التزييل يقلل من تركيز المذاب ما أمكن ذلك .

٣-وجود البقعة عند خط الأصل (Origin spread remaining) :
وذلك لانخفاض درجة ذوبان المكون في الطـــور المتحـــرك أو نتيجـــة لتكوين مركب غير ذائب مع شوائب الورقة أو المذيب أو لحدوث ادمصـــاص غير عكسي علي السيليلوز نتيجة لتفاعل المذاب مــــع الورقـــة (overload) وترسيب المذاب علي الورقة فيترك متبقيات له عند نقطة الأصل .

٤-إختفاء بعض البقع :
وقد يرجع ذلك نتيجة لتأثر مكوناتها بالضوء أو الأكسجين وتحولـــها إلـــي مشتق لا يتفاعل مع الجوهر الكشاف.

٥-حدوث انتشار جانبي للبقعة (Lateral spread) :
حيث يحدث إنتشار جانبي للبقعة خاصة فـــي حـــالات الغمـــر المكثـــف للكروماتوجرام .

٦-تعدد البقع (Multiple zones) :
حيث يتكون أكثر من بقعة لمادة واحدة وذلك لعدم الاتزان بين المركبـــات وأيوناتها وهو ما يلاحظ مع معقدات الأميد ويكون ذلك نتيجة :

- وجود المذاب في صور أو أشكال أيونية متعددة.
- أكسدة المذاب أثناء التطوير.
- بلمرة المذاب.
- وجود مشابهات للمذاب (Cis & Trans)

٧-تكون لون في أماكن لم يكن المركب فيها أساساً وهذا راجـــع إلـــي عـــدم استخدام الجوهر المناسب وكذا المذيب المناسب وهو ما يجعل البقعة تنتشـــر وتتحرك بعيداً عن مكانها الأساسي.

٨-ظهور خط طويل غير محدد:
وهذا يحدث عند فصل بعض الأحماض الأمينية التصاعدية والموجـــودة في صورة أيونية خاصة عندما يجري التصعيد في مذيـــب متعـــادل ويمكـــن التغلب علي هذه المشكلة باستخدام مذيـــب ذو درجـــة حموضـــة عاليـــة أو منخفضة.

التبادل الأيوني السيليلوزي في الكروماتوجرافي الورقي
(Ion Exchange cellulose's in paper chromatography)

وهو تطور للكروماتوجرافي الورقي حيث أنـــه مــن المعــروف أن السليلوز نفسه له مقدرة تبادلية للأيونات خفيفة جداً ترجع إلي محتــواة مــن مجاميع الكربوكسيل وقد أجريت بعض التجهيزات الكيميائية علـــي الــورق لجعلة ذو مقدرة عالية علي تبادل الأيونات ومن أهم هذه التجهيزات :

- السليلوز المؤكسد حامضياً (Acid oxidized cellulose) .
- كاربوكسي ميثيل سليلوز (Carboxy methyl cellulose) .
- أمينو إيثيل سليلوز (Amino ethyl cellulose) .
- داي إيثيل أمينو إيثيل سليلوز (Diethyl amino ethyl cellulose) .
- أكسي سليلوز (Oxy cellulose) .
- سليلوز فوسفات (Cellulose phosphate) .
- إسترات أحماض السليلوز (Acid esters cellulose)
- (Anion exchange cellulose)

والتبادل الأيوني السليلوزي يجمع بين مميزات التبادل الأيوني (الاســتفادة من الخواص الإليكترونية الكيميائية والثوابت الإليكترونية وما يتعلق بهما مــن تــأثيرات تنعكــس علــي الفصــل الكرومــاتوجرافي) ومميــزات الــورق الكروماتوجرافي (التوزيع التجزيئي و الأمصاص) ولقد أظـــهرت المخــاليط الغير عضوية والأحماض الأمينية نجاح كبير في هذا المجال.

وما هو جدير بالذكر أن التنكات والجارات المســتخدمة فــي الفصــل بالورق الكروماتوجرافي تستخدم أيضاً في هذا النوع كما أن معدل الســريان السريع نسبياً للمذيبات المائية (التي حلت محل المذيبات العضويـــة) وقصــر فترة الفصل أو التطوير أعطت مميزات أكثر للتبادل الأيونـــي خاصـــة فـــي طرق الفصل الصاعدة .

عملية التنقيط (Spotting) :

لا يوجد اختلاف كبير عما سبق الحديث عنه في حالة كروماتوجرافي

الورق العادي ولكن قد يحدث بعض التحويرات البسيطة حيث أنه ليس مـن الضروري تحديد حجم البقعة من خلال إضافة المخلوط علي دفعات يتخللـها عمليات التجفيف للبقعة قبـل أجـراء فصـل الكروماتوجرام (فـي حالـة الكروماتوجرافي الورقي العادي) وذلك لأن المواد المـراد فصلـها تدمـص بدرجة كبيرة علي أماكن محددة في السيليلوز معتمدة علي الأيونات المنفصلـة في المخلوط والتي تتبادل مع الأيونات المملوكة علي الراتنج وكـذا درجـة حموضة المخلوط المفصول.

المحاليل القياسية (Standard Solutions) :

حضرت العديد من المخاليط الغير عضوية محتوية كل منها علي ٢ مللـج معدن/ ١ ملل ١ حمض هيدروكلوريـك ١ عيـارى وبالنسـبة للأحمـاض الأمينية ٢ مللج حمض أميني / ١ملل حمض هيدروكلوريك ٠,١ ع .

تجهيز الورق (Preparation of paper) :

غالباً ما يكون النظام الأيوني للورق السليلوزي المستخدم للتبادل الأيونـي غير مناسب للاستخدام الفوري حيث لابد بل من الضروري وضـع الوسـط المتبادل (Exchanger) في ملح هيدروجيني أو دورة من أملاح الهيدروكسـيل قبل الاستخدام .

ومن أنسب الطرق وضع الورقة في جار وإجراء عملية الغسيل الصـاعد بالملح المناسب ويستمر ذلك طول الليل وتتوقف ظروف الغسيل تبعاً لنفـس المواد وطبيعتها.. ويجب أن تغسل الورقة بالماء العادي بعد المعاملة السـابقة إلا في حالة المواد المتطايرة ولو أنها خلقت الكثير من المشاكل خاصة مـع المواد المتبادلة الضعيفة .

ويجب الأخذ في الاعتبار إعطاء الفرصة للتخلص مـن المذيـب الأول تماماً قبل البدء في الغسيل بالمحلول الثاني وخاصة في حالة ضرورة الغسـيل بأكثر من مذيب .

كما أن هناك صعوبات تنتج أحياناً عنـد التخلـص مـن الاحمـاض أو القلويات من الأوراق ولذا يفضل أن تكون عمليات الغسـيل بالأحمـاض أو القواعد المتطايرة.

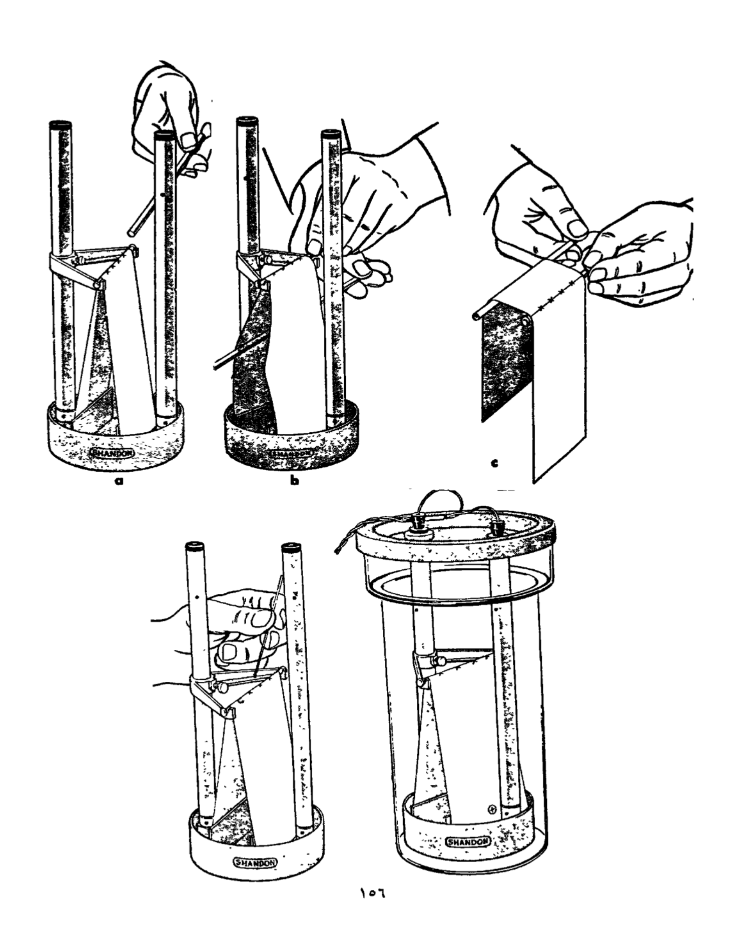
الكروماتوجرافي الأيوني المتبادل ذو الاتجاهين

(Exchange chromatography – Two dimensional ion)

وهذه التقنية لا تحقق ما حققته في الكروماتوجرافي الورقي العادي وذلك لأن معدل تحول سلسلة من الأيونات لا يتوقف علي طبيعة المذيب المستخدم في الفصل ولو أنها نجحت في حالات قليلة قد يتداخل فيها أيونات المذيب مع ايونات المخلوط المراد فصله كما في حالة استخدام مخلوط من كلوريد الامونيوم / هيدروكسيد الامونيوم كوسط تصعيد لفصل مخلوط من كاتيونات غير عضوية حيث تصعد الأمونيا.

الجواهر الكشافة للبقعة (Chromogenic agents) :

من أكثر الجوار شيوعاً في الكشف عن الأيونات غير العضوي هو حمض بنتا سيانو أمينو فيرو روبيونيك وقد يستخدم كذلك كبريتيد الأمونيوم لإظهار العديد من الأيونات الغير عضوية أما الأحماض الأمينية فيستخدم معها النتهيدرين (Ninhydrin) في الكلوروفورم المحتوي علي ١٠% حامض خليك ثلجي .


SHANDON
a
SHANDON
b
c
SHANDON
SHANDON

ثالثا : كروماتوجرافي التفريد الرقيق : الألواح ذات الطبقة الرقيقة
(Thin Layer Chromatography : T L C)

تعتبر طريقة الكروماتوجرافى ذو الطبقة الرقيقة مـــن أشـــهر الطـــرق الكيماوية التحليلية المتبعة الأن ولعلها تلى فى الانتشار وكـــثرة الاســتعمال طريقة الكروماتوجرافى الغازى (Gas chromatography) حتي أنـــها تســتخدم كوسيلة تأكيدية للكروماتوجرافي الغازي (Confirmatory test)

وهذه الطريقة بسيطة وسريعة وأكـــثر تخصصـــا ودقـــة مـــن طريقـــة الكروماتوجرافى الورقى (Paper Chromatography) ولعل وجود أعداد كبيرة من مواد الامتصاص (adsorbents) مع أمكانية تغيير ظروف العمـــل مـــن أهسم الأسباب التى أعطت العاملين بهذه الطريقة مرونة كبيرة فى تغيير الظـــروف للوصول إلى أكفأ فصل فى كل حالة من الحالات ولعل سرعة إنتشـــار هـــذه الطريقة وكثرة استعمالها هو الدليل الواضح على مدى قبول هذه الطريقة فـــى تقدير عديد من السموم والملوثات البيئية بمكونات النظام البيئي المختلفة .

كما تستخدم أيضاً كطريقة لتأكيد النتائج المتحصل عليها مـــن تقديـــرات الكروماتوجرافى الغازى فى حالة عدم توفر جهاز GC - MS وكذلك تســتخدم كأحدى طرق تنقية الكيميائيات قبل خطوات التعريف والتقدير الكمى .
وفى هده الطريقة نجد أن القوى الرئيسيه التى تؤثر وتتحكم فى هذا النوع من الفصل من قوى الادمتصاص (adsorbants) والتوزيع التخزينـــى ويوضـــح الجدول رقم (٣-١٠) مقارنة لميكانيكيات الفصل الكرومـــاتوجرافى للطبقـــة الرقيقة من حيث نوع المركبات المفصولة وكل من الوسط الثابت والمتحـــرك وزمن التطوير .

جدول رقم (٣-١٠) : ميكانيكيات الفصل في كروماتوجرافي الطبقة الرقيقة

وجه المقارنة	الامتصاص Adsorption	التجزيء Partition	تجزيء عكسى Reversed Phase Partition
١ - نوع المركب المفصول	هيدروفوبي (HYDROPHOBIC) وهى مواد كارة للماء ومحبة للدهون عديمة القطبية أو لها درجة ما من القطبية .	هيدروفيليه (HYDROPGILLIC) وهى مواد محبة للماء وكارة للدهون	مركبات قريبة من الهيدروفوبية
٢ - نوع الطبقة المستعمله كوسط ثابت	سيلكاجيل - أكسيد ألومنيوم كمادة أدمصاص نشطة	سليوز - سيليكاجيل غير منشطة مادة مدمصة تحتوى على الماء أو المحاليل المنظمة أو المحاليل عضوية عالية القطبيه غير منشطة	سليلوز - سيليكاجيل كمادة مدمصه تحتوى على محاليل غير قطبية وتستخدم بدون تنشيط
٣ - النظام المتحرك	مذيبات عضوية كثيرة	محاليل عضوية غالباً ما تكون مشبعة بالماء أو المنظم (Buffer)	محاليل قطبية
٤ - الوقت المستخدم بالتطوير	٢٠ - ٤٥ دقيقة	٦٠ - ٩٠ دقيقة	٦٠ - ٩٠ دقيقة

أساسيات الطريقة

تعتمد هذه الطريقة على تطبيق مخلوط مكونات العينة مجال الفصل والتقدير على طبقة رقيقة من المادة المدمصه الموجودة على لوح زجاجى حيث يتم التطوير داخل خزينة الفصل والتى تحتوى على المذيب المناسب لاجراء التصعيد أو الفصل والذى يمثل الطور المتحرك . وبحركة المذيب خلال اللوحة فأنه يحمل معه مكونات المخلوط حيث يتم الفصل على مسافات متباينه من نقطة بداية سريان المذيب : نقطة البداية وحتى نقطة نهاية سريان المذيب والسابق تحديدها فى التجارب الأوليه : نقطة النهاية ومن ثم ينتج عن ذلك عدة بقع يمكن الاهتداء إلى تعريفها بمعرفة قيم معدل السريان (Rate of Flow : R_f) ومقارنتها بقيم معدلات السريان لمركبات قياسية على درجة عالية من النقاوة تم فصلها تحت نفس الظروف . وتتلخص خطوات هذه الطريقة فى النقاط التاليه ، شكل رقم (٣ -١١) .

يتم تغليف الواح زجاجيه بمقاسات معينة (٥ X ٢٠ و ١٠ X ٢٠ و ٢٠ X ٢٠ و ٢٥ X ٢٥ سم) وذلك بعد تنظيفها جيداً بغسلها بالماء والصابون الدافىء والنقع لفترة ثم غسلها بالماء المقطر بعد ذلك فالأسيتون ثم تجفف .

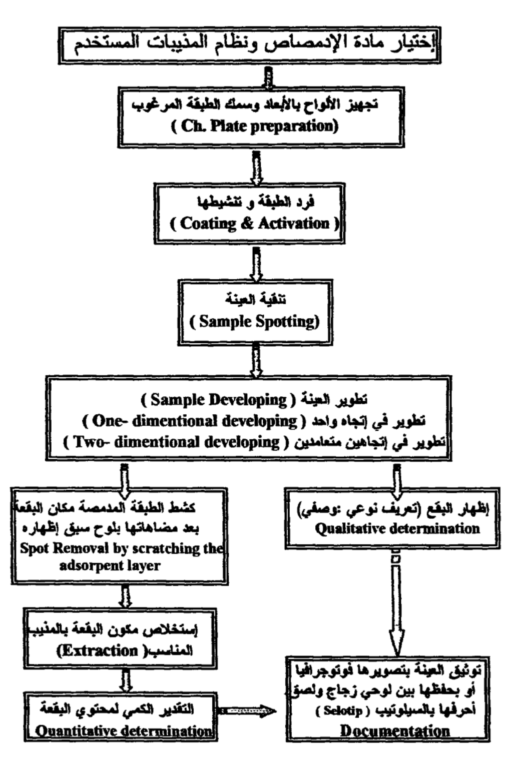
ويتم فرد طبقة رقيقه (Thin layer) ذات سمك معلوم يتراوح بتن ٧٥- ١٢٥ ، ٢٥٠ ملليمكرون ومتجانسة السمك في أي جزء منها أى (Thin Homgenized Layer) من مادة الامتصاص (Adsorpent material) كالسيليكا جيل بأنواعه وأكسيد الألومنيوم بأنواعه والسليلوز والتربة الدياتومية وسليكات المغنسيوم ، شكل رقم (٣-١٢) أو قد تباع هذه الألواح مفرودة جاهزة وهنا يوضح علي العبوة نوعية مادة الإدمصاص وسمكها .

ويتم حساب كمية المادة المدمصة واللازمة لكل شريحة من خلال حساب سمك الطبقة المراد فردها على اللوح الزجاجي فى مساحة اللوح :

كمية مادة الامتصاص بالجم / لوح =

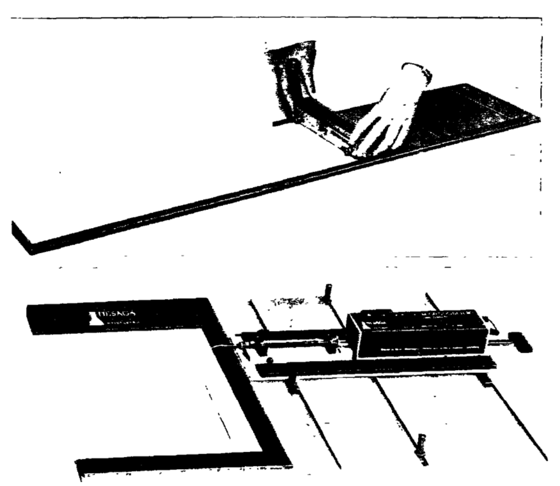
سمك الطبقه (مم)× طول اللوح (مم) × عرض اللوح مم = مم ٣ .

وتخلط هذه الكمية مع ضعف حجمها ماء مقطر وترج لثلاث دقائق وتعجن ثم يترك ثلاث دقائق أخرى قبل فردها حتى تخرج فقاقيع الهواء.



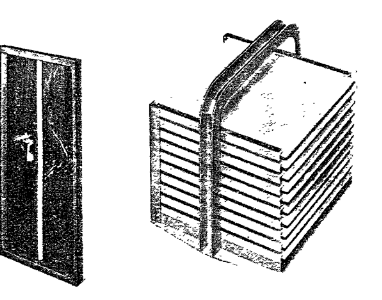
شكل رقم (٣-١١) : خطوات الفصل بالتفريد اللوني الدقيق

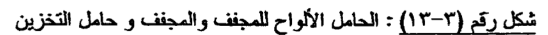
ويتم الفرد بواسطة جهاز (Thin Layer applicator) علـــي درجـــة السـمك المطلوبة سواء أكان استخدام الجهاز يدوى أو من خلال استغلال ضغط المياه وغالباً ما يكون السمك إحدي الدرجات التاليـــة : ٠,٢٥ -٠,٥٠ -٠,٧٥ ١,٠ مللم وقد يضاف للعجينة نسبة ٥% كبريتات كالسيوم بغرض تحسين خـــواص وشدة تماسك الطبقة على اللوح .



شكل رقم (٣-١٢) : جهاز فرد الطبقة الدقيقة (Thin Layer applicator)

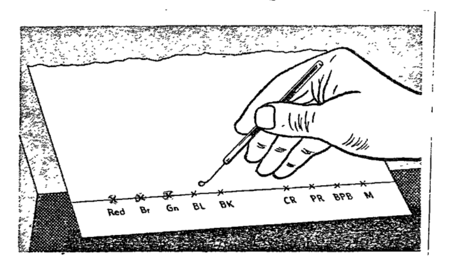
ويتم تجفيف الألواح بعد فردها فى فرن على درجة ١٠٠ °م / ٣٠ دقيقـــة ثم تحفظ بعد ذلك فى مجفف كلوريد كالسيوم حتى لا تمتص الرطوبة الجويـــة مع مراعاة أن تكون الأفران مخصصه لهذا الغـــرض وليســت للاســتخدام الشامل بالمعمل حتي نتلاشي تلوثها ، شكل رقم (٣-١٣) .





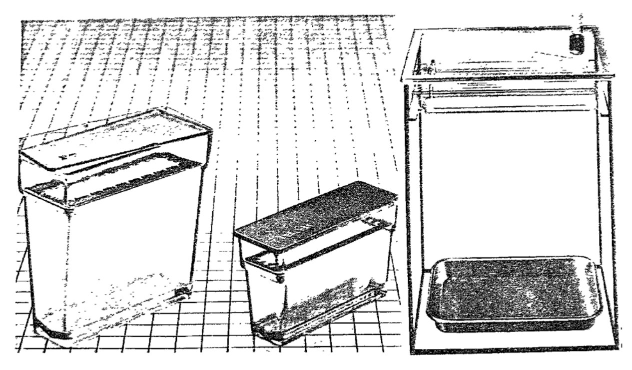
شكل رقم (٣-١٣) : الحامل الألواح للمجفف والمجفف و حامل التخزين

تتم عملية تنقيط مخلوط مكونات العينة المراد فصل مكوناته عن بعضـــها بغرض تعريفها (Identification) ثم تقديرها كميا (Quantitative determination) أو إن كان بغرض فصل مكون ما من مواد متداخله معه ويراد التخلص منـــها (Clean up) . ويتم التنقيط على إحدى جوانب اللوح وعلى بعـــد ١,٥-٢ ســـم منه حيث تكون النقط على مستوى خط وهمي يسمى بخط البداية (Start line) ، شكل رقم (٣-١٤) كما تتم معها تنقيط المركبات القياسيه (Standards) فـــي حالة ما كان متواجس أو متوقع نوعية المكونات المكونة للمخلوط .



شكل رقم (٣-١٤) : عملية تنقيط الألواح بطريقة نصف أوتوماتيكية

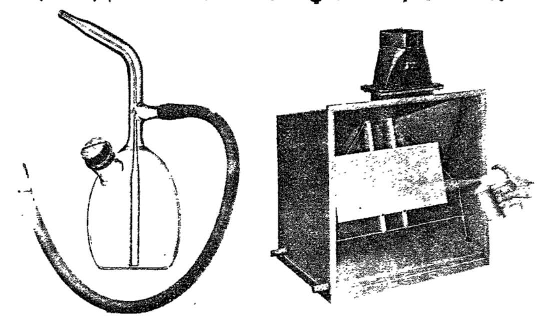
وتجرى عملية التطوير (Developing) وذلك بوضع النظـــام المتحـــرك (Mobile system) وتركه فترة بحجرات التطوير (الكابينة : التنـــك) مغطـــى قبل وضع الألواح ثم توضع ويتم قفلها بإحكام جيد وتترك لفترة حتى يرتفـــع النظام لأعلى لمسافة مناسبه (Ascending development) وهنا يرفع اللوح مـــن التانك ويجفف مع تعليم خط النهايه (Front line) ، شكل (٣-١٥) .



شكل رقم(٣-١٥) : أنواع حجرات الكروماتوجرافي ذات الألواح .

تجرى عملية الإظهار (Visulization) حيث يتم رش اللوح بإحدى أنـــواع الجواهر الكشافة المناسبة لنوع المكون المراد فصله وتعريفه ومما هو جديـــر بالذكر أنه يمكن إجراء ما سبق تماماً ولكن بغرض إجراء عملية تنقية لمكـــون ما متداخل معه مركبات أخرى (Clean up) وليس بغرض التعريف والتقديـــر وذلك بوضع المركب فى صورة شريحة أو حزمة(Stroke : band) وليس فـــى صورة نقط لإمكان تنقية أكبر قدر ممكن من العينة ثم تجري عملية تطويـــر (Development) ثم يتم إظهار (Detection) جزء أو شريط رأسي من اللوح ولا

يتم إظهار اللوح كله بغرض معرفة أماكن المكونات المـــراد تنقيتـــها حيــث تكشط هذه المسافات بعد ذلك وتجمع فى أنابيب إختبار حيث يتم إزابتها فـــى المذيب المناسب لإستكمال باقي عمليات التحليل ، شكل رقم (٣-١٦) .



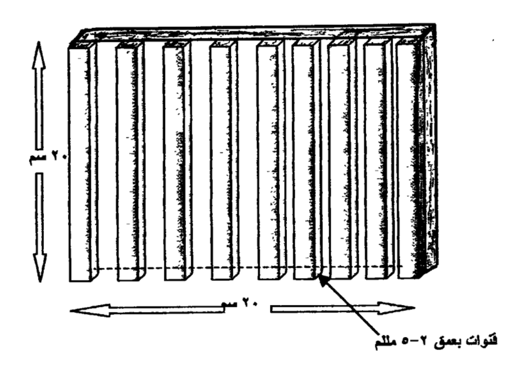
شكل رقم (٣-١٦):أنظمة رش محاليل الإظهارالملونة على الكروماتوجرام .

ولقد كان لهذه التقنية (التنقية) أثرها فى تطوير شكل اللوح الزجـــاجى ليتناسب مع عملية التنقية وسمي بلوح الكروماتوجرافي القنوي Chanal plate (Chromatography) حيث يكون شكل اللوح سميك يصل سمكه من ٧-١٠ مللـم وله نفس الأبعاد السابقة (٢٠ x ٢٠ سم) وبها تسعة قنوات رأسية بعمـــق ٢ مللم وعرض ١ سم ، شكل رقم (٣-١٧) حيث يتم عليه فرد عجينـــة طبقــة الامتصاص ثم تكشط الزائد من العجينة عن سعة هذه القنوات بواسطة ســكين أو أسباتيولا ذات طرف طويل مستقيم حاد ثم تدخل الفرن بعد ذلك لتنشــيطها على درجة حرارة ١٣٠ °م / ساعة بعدها تترك لتبرد بجو المعمل ويتم مســح أى أثار من مادة الادمتصاص عليها ويلاحظ أن التجــاويف الموجــودة فــى اللوح تحقق نظام العمود المفتوح ويجب الأخذ فى الإعتبار نظافة المذيبـــات ومواد الادمصاص منعاً للتلوث .

جدول رقم (٣-٩) : نماذج مختلفة للجواهر الكشافة المظهرة للون والمستخدمه فى إظهار مجموعات مختلفة من المركبات

المجموعة	الجوهر الكشاف
هيدروكربونات عضوية محتوية على الكلور	١-محلول ١ % نترات فضة للرش ويحضر بإذابة ٠,١ جم في ١ ملل ماء مقطر ثم يضاف إليه ٢٠ ملل من محلول ٢- فينوكسى إيثانول ثم يخفف المحلول حتى ٢٠٠ ملل بالأسيتون ثم يضاف إليه قطرة من فوق أكسيد الايدروجين ويحفظ بعيداً عن الضوء ولا يجب إستخدامه بعد ٥ أيام ٢-الرش بمحلول Chromotrpic acid
هيدروكربونات عضوية محتوية على الفوسفور	١ -محلول ٢% بارانيتروبنزيل بيريدين (p-nitrobenzyl pyridine: p-NBP) فى الأسيتون ، محلول ١٠% تترايثيلين بنتامين (Tetra ethylne pentamine) فى الاسيتون . حيث يتم رش الكروماتوجرام بالمحلول الأول ثم يوضع فى الفرن على درجة ١١٠°م/١٠دقائق ثم يخرج ويرش بغزارة بالمحلول الثانى فتظهر البقع بلون بنفسجي مزرق (purpl blue) على خلفية بيضاء بالكروماتوجرام (في حالة تكوين خلفية مختلفة يكون نتيجة تأكسد الجواهر الكشافة المستخدمة وهذا يشير لنقص الحاسيه . ٢-الرش بمحلول البرومين (Bromine) ثم بمحلول نترات الفضة . ٣- الرش بمحلول موليبدات الأمنيوم ثم محلول حمض البيركلوريك. ٤- الرش بمحلول الرودامين (Rhodamine B) .
هيدروكربونات عضوية محتوية على فوسفور وكبريت	١-يرش بمحلول حمض الستريك (٥ مم حمض ستريك فى ٥ ملل ماء ثم يكمل الحجم حتى١٠٠ ملل أسيتون) فيتحول لون الكروماتوجرام الأزرق . ثم يرش بمحلول نترات الفضة (٠.٥ جم فى ٢٥ ملل ماء مقطر ثم يخفف حتى ١٠٠ ملل بالأسيتون ويحفظ بعيداً عن الضوء) فيتحول للبنفسجى المزرق . يرش الكروماتوجرام بعد ذلك بمحلول تترايثيلين بنتامين فى الأسيتون فتظهر البقع بلون أزرق والخلفية صفراء أو خضراء مزرق . ٢-يرش بمحلول ١% تترابرومو فينول فيثالين المخفف بالأسيتون فيتحول لون الكروماتوجرام للون الأزرق . ثم يرش بعد ذلك وبغزارة فى المره الأولى ثم يرش خفيفاً فى المرة الثانية بواسطة محلول نترات الفضه ٥% (٠,٥جم نترات فضه تذاب فى ٢٥ ملل ماء مقطر ثم تخفف إلى ١٠٠ ملل بالأسيتون) فيتحول للون (bulish purble) وقبل ظهور البقع وبعد دقيقتين يرش رش متوسط بحمض الستريك (٥جم حمض فى ٥ ملل ماء ثم يخفف إلى ١٠٠ بالأسيتون) فتظهر البقع بلون أزرق أو بنفسجى مزرق تبعاً لنوعيه المكون وتتحول الخلفيه الى اللون الأصفر. وتحدد البقع بسرعة قبل تحول الخلفية لأزرق مخضر يتداخل مع حدود البقعة ٣- الرش بمحلول ١ ، ٢ -داى كلور-٥،٤ -داى سيانو بنزوكينون ٤-الرش بمحلول ٤- بيكولين ثم بمحلول بارا-بتروبترين . ٥-الرش بمحلول نترات الفضة ثم بمحلول البلاتينات

هيدروكربونات عضوية كرباماتيه و مشتقات اليوريا	١-يرش كروماتوجرام السيليكاجيل بمحلول ٥٠% حمض كبريتك ثم تسخن لدرجة ١١٠ْم /١٥د. ثم يبرد ويرش بمحلول النتروز (١ جم نترات صوديوم +٢٠ملل حمض هيدروكلوريك ٠,٢ع حيث يخلطاً معاً قبل الرش مباشرة) ثم محلول ١% ١-نافثول فتظهر البقع بلون البنفسجي مزرق ٢-الرش بمحلول برومين ثم الفلوروسين . ٣-الرش بمحلول رودامين ثم التعويض للأشعة الفوق بنفسيجية (UVL)
هيدروكربونات عضوية كرباماتيه و مشتقات أكسجينية.	١-يرش الكروماتوجرام السيليكا(G) بمحلول ٠,٢ جم من ٢،٦- داى بروكينون كلورأميد فى٢٠ملل كلورفورم ثم يسخن ١١٠ْم/١٥ د. ثم يرش بمحلول منظم (٠,١ عيارى بورات صوديوم فى الماء المقطر) . ٢-الرش بمحلول نترات الفضه ثم محلول ١-نافثول . ٣-الرش بمحلول فانيلين ثم محلول حمض الكبريتيك . ٤-الرش بمحلول بار-داى ميثيل أمينو بنزالهيد .
حمض الكلوفينوكسىو مشتقاته الميثيلينه	ترش ألواح الألومنيوم والمطوره بالهكسان والأسيتونتريل بمحلول نترات الفضه(٠,١ جم نترات فضه فى ١ملل ماء مقطر ثم ٢٠ ملل من فينوكسى إيثانول وخفف بالأسيتون حتى٢٠٠ ملل مع قطرة فوق أكسيد الهيدروجين ثم يعرض للاشعة فوق البنفسجيه فتظهر بقع بني
تراى أزينات	١-عملية كلورة ثم الرش بالتلويدين ثم يودور البوتاسيوم ونترات الفضة ٢-إستخدام Brilliant green والبرومين .
مركبات داى نيترفينول	١-الرش بمحلول كلوريد القصديروز ثم بارا-دى ميثيل أمينوبنزالدهيد . ٢- الرش بهيدروكسيد البوتاسيوم ثم التعريض للاشعه فوق البنفسجيه
اليوراسيل	إستخدام Brilliant green والبرومين
الداى ثيكرمامت	١-رش بمحلول كلوريدا النحاس (cucl 2) ثم الهيدروكسيل اميد . ٢- الرش محلول صوديوم اريد .
كربوهيدرات	محلول انيسالدهيد(anisialdelyde) في حمض الخليك أو حمض الكبريتك
إستيرويديدات و إ. جليكوزيدية	محلول ثالث كلوريد الانتيمون فى الكلورفوم
الدهيدات وكيتونات	محلول ٢-٤ داى نيتروفينل هيدرازين (2,4- -DNPH)
قلويات وقواعد	الجوهر الكشاف الخاص بتفاعل Deagendorff
الفينولات	محلول كلوريد الحديك ٢%
أحماض أمينيه	محلول النتهيدرين (Ninhydrine)
سكريات أمينية	محلول نترات الفضة وهيدوكسيد الأمونيوم
أمينوفوسفوتيدات	محلول نترات الفضه وهيدركسيد الامونيوم
ليبيدات وفيتامين أ	بروموكريزول البنفسجي
أحماض	بروموكريزول جرين



شكل رقم (٣-١٧): لوح التنقية ذو القنوات (Chanal plate Chromatography)

ويجب الأخذ فى الإعتبار أن طرق التفريد اللونى الرقيق تستخدم كطرق تأكيدية (Confirmatory test) للنتائج المتحصل عليها من الكروماتوجرافى الغازى (Gas Chromatography) خاصة مع النتائج الخاصة بمتبقيات السموم (Toxic Residues).

كما أنها تعتبر إحدى الطرق الرئيسية والتى يعتمد عليها المحلل الكيميائى (Analyst) فى فصل وتعريف وتقدير متبقيات السموم لأجزاء فى المليون وبدقه بالغة فى حالة عدم وجود جهاز كروماتوجرافى بمعمله ، جدول رقم (٣-١٠).

جدول رقم(٣-١٠):يوضح قيم معدل السريان ($100 \times R_F$) للسموم على الفلورسيل بعدة أنظمة مختلفة

المركب المفصول	أسيتون تولون ٩:١	تولوين	داى إيثيل إيثير :هكسان ١٥ : ٨٥	داى إيثيل إيثير هكسان ١٥:٨٥	هكســـــان
Hexachlorobezene	90	90	80	76	70
Aldrin	90	90	77	71	61
Chlordane	90	90	69 , 64,57	69,48,22	20 28, 37, 45
DDE	88	87	80	69	51
Isobenzan:l-chloro-2,2-bis(4-ch.ph)	90	90	78	71	48
Ethylene	89	88	78	69	48
Quintozene	89	87	82	68	43
DDT	88	87	67	58	40
& - BHC	86	85	68	61	35
Y-BHC	87	86	61	51	26
TDE	86	83	63	46	24
Trifluralin	88	88	76	74	19
Pentachlorophenyl acetate	87	80	65	55	19
BenfluraLIN	90	83	74	63	12
Bromophos -ethyl	84	83	64	57	13
Dichlofenthion	89	78	65	57	7
Dursban	89	77	65	55	3
Fenporop buty 1	87	74	60	50	3
4,4dichlorobenzophenone	87	63	58	47	2
Endrin	85	74	57	39	9
Dielderin	85	75	53	39	7
Ethion	89	79	50	33	2
Dicofol	87	63	48 (60)	32 (50)	4
Fenoprop1	84	62	48	34	4
Fenoprop methy 1	86	57	50	31	2
2,4,5-T n-buty 1	86	57	50	31	2
Dinocap	88	61	50	30	0
2,4,5-T isobutyl	87	52	50	32	0
2,4,5-T isopopyl	87	53	50	32	0
Tetradifon	87	65	47	30	2
Bromoxynil octanoate	86	57	46	28	0
2,4,5-n propyl	87	49	45	27	0
Nitrofen	85	78	43	26	2
N,N-Dimethyl-p-phenylazoanilime	84	42	41	26	0
2,4,5-T ethyl	86	43	41	25	0
2,4-D sec-butyl	83	51	44	23	0
Parathion	85	51	38	23	4
2,4-D isobutyl	86	43	39	21	0
Dicloran	73	45	25	21	2
2,4-D n-butyl	84	74	37	20	0

المركب المفصول	أسيتون تولون ٩:١	تولوين	داى ايثيل ايثير :هكسان ٨٥ : ١٥	داى ايثيل ايثير هكسان ١٥:٨٥	هكســــان
2,4-D isoproppyl	84	46	38	19	0
2,4,5-T methyl	82	43	33	18	1
2,4-D ethyl	82	43	31	17	0
Phenothiazine	75	65	28	16	1
2,4-Dichlorophenol	59	37	27	18	4
δ-BHC	84	80	28	14	4
Diazinon	84	30	28	14	2
2,4-D methyl	79	32	21	13	0
2,4,5-T butoxy ethyl	83	26	23	11	0
A-Naphthol	63	29	23	11	2
3,4-Dichloroaniline	84	42	13	7	4
Mercapto diethyl	65	23	22	7	0
Dioxathion	86	32	17	8	3
Malathion	79	22	14	5	2
2,4-D butoxyethyl	84	14	13	4	0
Folpet	80	27	12	0	0
p-phenylazoanilme	68	24	10	4	0
Trichlorophenol	86	13	4	3	2
Captan	70	13	6	0	0
Linuron	68	11	5	2	0
Dithianon	81	13	0	0	0
Imidan	73	10	3	0	0
Carbaryl	(64)	11 (30)	4 (24)	1(11)	0
Ametryne	59	10	6	4	1
2,4-Dichlorophenoxy ethanol	52	8	3	2	0
Propazine	60	6	5	0	0
Azinphos-ethyl	73	5	4	0	0
Azinphos-methyl	68	4	2	0	0
Atrazine	60	5	4	2	0
Thiram	45	8	5	2	0
Dazomet	45	8	1	0	0
Simazine	43	1	0	0	0
Cyolane	41	3	3	2	0
4-Nitrophenol	35	5	4	3	1
Crotxyphos	41	0	0	0	0
Demeton-methyl	39	3	1	0	0
Diuron	41	0	0	0	0
Bromacil	41	0	0	0	0
Monuron	35	0	0	0	0
Fluometuron	33	3	2	0	0
Methomyl	25	6	0	0	0
Fenuron	25	3	0	0	0
Haloxon	25	0	0	0	0

المركب المفصول	أسيتون تولون ٩:١	تولوين	داى ايثيل ايثير :هكسان ١٥ : ٨٥	داى ايثيل ايثير هكسان ١٥:٨٥	هكسـان
Coumaphos	14	6	5	0	0
Dimethoate	17	2	0	0	0
Thiabendazole	11	0	0	0	0
Warfarin	11	0	0	0	0
Trichlorofon	7	0	0	0	0
Pentachlorophenol	7	0	0	0	0
Amitrole	0	0	0	0	0

توثيق الكروماتوجرام (Documentation)

يمكن توثيق الكروماتوجرام بطرق متعددة منها التصوير الفوتوغرافي والذى يعتبر من الطرق المفضلة لتوثيق الكروماتوجرام وعادة ما يرفق مع الكروماتوجرام الموثق جدول لتسجيل البيانات التالية :

أسم ومكان المعمل.................. تاريخ التطوير.......... رقم الكروماتوجرام......
العينة .... تركيز العينة.. .... أبعاد الشريحة...... ...
الطور الثابت.............. .... الطور المتحرك......... ......سمك الطبقة............
طول مسافة التطوير ....درجة حرارة التطوير .... النقطة.........
طريقة الاظهار :

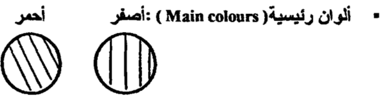
- كيميائيه ....
- طبيعية ....
- إنزيمية ....
- **وجود معاملة حرارية من عدمه ....**

تعريف المركبات :

حيث يتم تعريف لون مركبات البقع بإستخدام مفتاح (Nybom key) لتميز ألوان البقع بالكروماتوجرام الموثق ، شكل رقم (٣-١٨) :

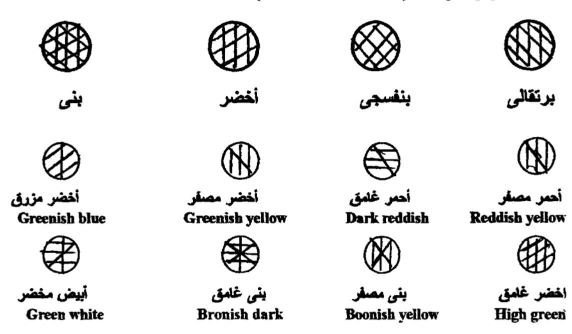
- فإذا كانت البقعة مكثفة واضحة الحدود تعلم بدائرة كاملة ◯.
- وإذا كانت البقعة غير مكثفة وغير واضحة الحدود تعلم بدائرة متقطعة ◌
- أما لون البقعة على الكروماتوجرام الموثق فتوضح بالطرق التمثيلية التالية :

- **ألوان رئيسية (Main colours) : أصفر أحمر أزرق**





▪ ألوان متوسطه (Intermediate colour):



وتمتاز طرق التفريد اللونى الرقيق بالأتى :

- إمكانية فصل كمية أكبر من تقنيات المكونات غير الطـــرق الأخـــرى (الكروماتوجرام الورقى)
- إمكانية التحكم فى درجة الحرارة ولو أن ليس مطلوب التحكـــم فيـــها بدقة كما فى الكروماتوجرام الورقى .
- درجة غليان النظام المتحرك من ٥٠-١٢٠ ْم والإيتبخر بسرعة .
- يمكن إزالة أو كشط (Abrassive) للطبقة المحتوية علي البقعة .
- يجب أن تذاب العينة فى مذيب على الأقل بنســـبة ١% قبـــل عمليـــة التنقيط حتى يكون تركيز المحلول الناتج ١% على الأقل .
- يتراوح حجم العينة المنقطة فى البقعة بين ١-١٠ ميكروليـــتر علـــى طبقه سمكها ٠,٢٥ ملليميكرون مع مراعاة أن زيادة التركيز بالبقعـــة أو زيادة حجمها يؤدى لنقص حساسية الفصل فتنقيط تركـــيز عـــالى قـــد لا يتوافق مع النظام المتحرك فلا يتحملها عـــلاوة علـــي حـــدوث الـــتزييل وبالتالي صعوبة تحديد مركز البقعة .
- صغر حجم كابينة التفريد اللونى الدقيق يؤدى إلى درجة عاليـــة مـــن التشبع (Saturation) بأبخرة النظـــام المتحـــرك فـــلا يحـــدث إختـــلاف

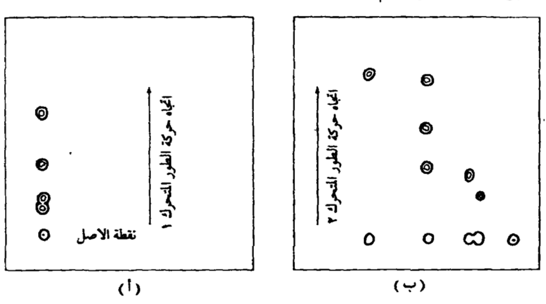
(إنخفاض) فى معدل السريان ويزداد هنا معدل السريان وبالتالى ترتفع قيمة معدل السريان لزيادة التشبع (الضغط البخارى) لمذيبات النظام المستخدم .

- سرعة الفصل الملحوظة عند مقارنتها بالفصل الورقى الكروماتوجرام وذلك لوجود الخاصية الشعرية لمادة الإدمتصاص علاوة على قوة الجذب السطحى للوح الزجاجى .
- إمكانية إستخدام المواد المظهرة (Chromogenic agents) والتى تسبب تآكل الأحماض المركزة .
- إمكانيه الإختيار الواسع لنوعية مادة الإدمتصاص وفردها والتى تتناسب مع نوعية المادة من حيث درجة قطبيتها وحامضيتها أو قاعديتها ، فالمواد الهيدروفوبية والمواد المتطايرة تفصل بسرعة وسهولة من خلالها .
- كذلك تظهر معها المواد الفلوروسية أكبر وضوحاً عن الورق كما أن الفصل من خلالها يكون أكثر وضوحاً مع التعرض للأشعه فوق البنفسجية .
- يمكن حفظ العينات التى تم وضعها وإظهارها على الألواح وتوثيقها (Documentation) سواء بتصويرها فوتوغرافياً بين شريحتين زجاجيتين ثم تلصق الأحرف الأربعة بشريط لاصق (Selolip) فيعزل البقع المظهرة عن الجو بالمحيط الخارجى .
- يمكن إستخدام هذه التقنية فى التقدير الكمى (Quantitative analysis) حيث يمكن تقدير أي مكون مفصول سواء قبل إظهاره (من خلال التعرف على مكانه من خلال شريحة أخرى ثم إظهارها) أو بعد الإظهار حيث تكشط (scraped) الطبقة الموجودة فيها العينة (من على محيطها الخارجى) ويجمع الكشط فى أنبوبة اختبار ويضاف إليها ٣ ملل من المذيب المناسب على الكشط فتذيب اللون بالبقعة والذى يتم تقديره على طول موجى مناسب ثم تترجم قراءة الكثافة اللونية الناتجة (Optical density) إلى تركيز من خلال منحنى قياس (Standerd curve) .

كروماتوجرافى الطبقه الرقيقة ذات البعدين (Two- dimentional Thin Layer Chromatography)

حيث تتم عمليه التنقيط (Spotting) للمركب المراد فصلـه وتعريفـه أو تقديره كمياً فى إحدى أركان اللوح فقط ثم يتم تطويره (Developing) بنظـام الفصل المرغوب لمسافة معينة ثـم يـزال الكرومـاتوجرام مـن الكابينـة الكروماتوجرافية ويجفف ثم يعاد وضعه فى الكابينة مرة أخرى ولكـن فـى وضع متعامد على الوضع السابق أي يدار ٩٠ ° ليتم تطويره للمـرة الثانيـة سواء بنظام الفصل : الطور المتحرك الأول أو بإستخدام طور فصل أخـر ، شكل رقم(٣-١٨) .

وتفيد هذه الطريقة عندما تنفصل مكونات عينة أو مخلوط معين ويكـون لمركبين منهم قيم معدل سريان قريبة من بعضـهما بمـا يجعلـهما يلتصقـا بقمتهما أو التأكد من أن بقعة تم إظهارها تحتوى على مركـب واحـد فقـط وليس مركبين قريبين فى معدل سريانهما فملتصقان فى صورة بقعـة كبـيرة نسبياً وهذا ما يحدث عندما تكون المسافة بين خط البدايـة والنهايـة ليسـت كبيرة نوعاً ما أو لعدم توافق الطور المتحرك معها



شكل رقم (٣-١٨): الفصل في إتجاهين

ويعتبر إستخدام هذه التقنية أيضاً هامة للكشف عن بعـــض البيريـــثرويدات والمركبات الأخرى كما موضح بالجدول التالى رقم (٣-١١) :

جدول رقم(٣-١١) : قيم معدل السريان لبعض البيريرثرويدات والمركبات الأخرى على السيلكاجيل باستخدام الهكسان وخلات الإيثايل (١:٣) :

المركب المفصول	التطوير الأول	التطوير الثاني
بيرثرين ١ (Pyrethrin -1)	٥٠	٦٠
بيرثرين ٢ (Pyrethrin -2)	٣٠	٤١
سينيرين ١ (Cinerin -1)	٥٧	٧٢
سينيرين (Cinerin -2)	٣٥	٤٤
بيريثرين بيروكسيد -١	-	٣٢
بيريثرين بيروكسيد -٢	-	١١
سينيرين بيروكسيد -١	-	٣٧(٢٣)
سينيرين بيروكسيد -٢	-	١٧
ليوميبيرثرين (Lumipyrethrin)	-	٠
اليثرين (Allethrin)	٤٨	-
بيبرونيل بيوتوكسيد (Piperonyl butoxid)	٣٥	-
بوكاربولات (Bucarpolate)	٢٣	-
S421	٦٧	-
Butter yellow	٤٢	٥٣
إندوفينول (Indophenol)	٣٥	٤٥
Sudan red G	٢٧	٣٦

كروماتوجراف الطبقة الرقيقة ذات الطبقة المنعكس (Reverse – phase TLC)

وهنا يستخدم الطور الثابت من النوع الغير قطبـــى (Non – palar) غـــير محب للماء (Hydrophopic) ويكون النظام المتحرك المســـتخدم قطبـــى (Polar) محب للماء (Hydrophilic) كالماء أو الكحولات أو خليط منها مثلاً كما يفضـــل معاملة الألواح قبل عملية التطوير (Development) بزيت معدنى أو ســـيليكون (غير قطبى) أو حمض السليك (Silicic acid) ويوضح الجدول التالي رقـــم (٣-١٢) قيم معدل سريان لبعض السموم الفوسفورية العضوية والمركبـــات العضوية الأخري بإستخدام الطور المنعكس لألواح كروماتوجرافية معاملـــة بحمض السليسيك/زيت معدني وأخرى معاملة بحمض السليسك / والســـليكون بإستتخدام الإيثانول والماء (١: ٢)

جدول رقم (٣-١٢) : قيم معدل سريان بإستخدام الطور المنعكس

المركب	حمض السليسك / زيت معدنى	حمض سليسك / زيت سيليكون
كوليب (Cloep)	٢٠	٣٧
EPN	١٢	٢٥
ميثيل باراثيون Methyl parthion	٣٥	٥٠
٠اراثيون Parthion	٢٥	٣٠
بارا نيتروفينول P-Nitrophanol	٦٥	٨٧
فينول Phenol	٥٠	٧٠

كروماتوجراف الطبقة الرقيقة بالإنزيم المثبط(TLC–Enyme Inhibitition : CEI)

وهى من الطرق الحديثة فى الكشف والتقدير لبعض المركبات التى لـــها قدرة فى التنشيط النشاط الإنزيمـــــى كـــالمبيدات الفوســـفورية والكاربامتيـــة العضوية مع الأخذ فى الإعتبار أن المشتقات الكبريتية [P(S)] تعتبر مثبطات

ضعيفة النسبة لمشتقاتها الأكسيجينية [P(O)] ولذا يراعي تحويلها من [P(S)] إلي [P(O)] قبل تتبعها إنزيمياً وذلك عن طريق معاملتها ببخار أو ماء البرومين أو بواسطة مركب : ن-برومو سكسيناميد (N-bromosuccinimide) مع مراعاة إزالة البرومين الزائد قبل رش الألواح بمحلول الإنزيم كما تقوم الأشعه فوق البنفسجيه بأكسدة المشتقات الكبريتية إلي أكسيجين مع الأخذ في الإعتبار أيضاً أن هذه الأشعة قد تؤدى إلى تكسير بعض السموم الكرباميتية .

مصادر إستريزات طريقة الطبقة الرقيقة بالإنزيم المثبط TLC - EL :

هناك مصادر عديدة للإستريزات التي تستخدم مع طريقة الطبقة الرقيقة بالإنزيم المثبط منها إستريزات كبد الأغنام والخنازير والبقر والقرود والفئران كما تعد بلازما دم الإنسان وسيرم دم الحصان وكذا رؤوس الذباب أو النمل من المصادر الجيدة للإنزيم (الاستريز) نظراً لحساسيتها العالية للتثبيط بهذه السموم ويجب مراعاة أن يكون الإستريز من مصادر طازجة للحفاظ على نشاط الإنزيم وعدم إنهياره التدريجي علي درجة حرارة الغرفة ولذا يفضل تجميد مستخلصات الكبد فى حالة التخزين .

وما هو جدير بالذكر أن إنزيمات التربسين وكذا إستريزات الكبد تعد متاحة تجارياً .

ولإعداد المستخلص الإنزيمى للتطبيق يمزج ٥٠ جم من الكبد مع ١٨٠ مل ماء مقطر بارد أو محلول منظم للنيكوتيناميد (pH8.3) لمدة دقيقتان ثم يجرى له طرد مركزى على سرعة ٢٠٠٠ لفة / ٥ ق / ٤ ْم ويحفظ المستخلص الرائق فى أنابيب اختبار بالمجمد ويجب تخفيف المستخلص الإنزيمى قبل الرش بمحلول منظم (Tris) بمعدل ١ جزيء من المستخلص / ٨ جزيء محلول المنظم وذلك للحصول على درجة النشاط الإنزيمى المطلوبة على الألواح بما يتلاءم مع الحدود التى يمكن تقديرها لكل مركب أو مجموعة من المركبات ولهذا يجب إختبار نشاط المحلول الإنزيمى لتحديد مدى درجة التخفيف المناسبه قبل الرش .

ولتطبيق المستخلص الإنزيمى على الألواح بعد إجراء عمليه التطوير أو الفصل للسموم المراد التعرف عليها وتقديرها سواء بالتصعيد فى إتجاه واحد أو إتجاهين أو بإستخدام الطور المنعكس وبعد التخفيف المرغوب يتم رش

محلول الإنزيم بلطف (gently) على اللوح كله وبدرجة تكفـــى للتبليـل دون حدوث تسيل لمحلول الرش (Run off) من على الألواح حيـث تحفـظ بعـد الرش أفقياً (Horzontal) على درجة حرارة المعمل حتى تجـف مـع إتاحـة الفرصه لجزيئات السم بالبقعة من تثبيط الإنزيم المرشوش .

حيث يتم الإظهار (Visulization) من خلال رش المواد المظـهرة للـون (Chromogenic agents) على الكروماتوجرام مثل :

- ١-نافثيل استيات
- برومو اندوكسيل أسيتات
- إندوفينيل أسيتات

والمذابة فى الميثانول أو الإيثانول أو الأسيتون حيـث يمكـن تخفيـف المحالبل القياسية بواسطة محلول منظم بارد مع ملاحظة رش كميه مناسـبه من الجوهر الكشاف ليتسنى التفاعل وظهور البقـع أو المسـاحات الممثلـة لأماكن السموم على خلفية ملونة نظرا لتفاعل الجوهر مع جزيئـات الإنزيـم الباقية بدون تثبيط حيث أن السموم تثبط النشاط الإنزيمى ومن ثم يقف التحلـل المادئى للمادة الملونة ومن ثم لا ينتج لون فى هذه المساحات .

وقد يتفاعل الجوهر مع مادة تفاعل الإنزيم حيث يتم رش مادة الأسـيتيل كولين كمادة تفاعل لإنزيم الكولين إستيريز قبل رش الإنزيـم والـذى يقـوم الإنزيم بتحليلها إلى قاعدة الكولين وحمض الخليك وتعد هذه الطريقة الأكـثر شيوعا حيث أنه فى حالة استعمال دليل الحموضـة (pH – indicator) أزرق البروموفينول كمادة مظهره فأن البقع تظهر بلون أزرق نتيجة تثبيط الإنزيـم بجزيئات السم وبالتالى عدم مقدرته على تحليل مادة تفاعله : الأسيتيل كوليـن على خلفية صفراء فاتحة حيث تكون جزيئات حمض الخليـك تحـول دليـل أزرق البروموفينول إلي اللون الأصفر الباهت أو قد تظهر عديمة اللون :

$$(CH_3)_3\text{-}N^+CH_2\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}O\text{-}CH_3 \xrightarrow{\text{Enzyme}}$$

Actylcholine

$$(CH_3)_3\text{-}N^+CH_2\text{-}CH_2\text{-}OH \quad + \quad CH_3\text{-}CO\text{-}OH$$

Choline base　　Acetic acid .

وقد يقوم الإنزيم بالتحلل المائى لبعض المواد الوسيطة مثـــل ١-نـــافثيل أسيتات منتجاً ١- نافثول وحمض الخليك :

1-naphthyl actate $\xrightarrow[H_2O]{Enzyme}$ 1-naphthol + acetic acid

حيث يرتبط الوسيط الإنزيمى ١- نافثول مع ملح الديـــازونيم معطيــاً لون أزرق غامق وفى هذه الحالة نجد أن بقعة السم المثبط للإنزيم لا تظـــهر بها اللون بينما تظهر الخلفية زرقاء أى أن مواقـــع الســموم تظـــهر علـــى الكروماتوجرام كبقعه عديمة اللون مع خلفية ملونة .

وقد يستخدم فى بعض الأحيان الإندوفينيل أسيتات وهـــى مـــن أحســن المواد التى يوصى بها فى التقدير اللونى لهذه التقنية (TLC – EI)

Indophenyl actate $\xrightarrow[H_2O]{Enzyme}$ Indophenol + actic acid

لون أزرق

وفى هذه الحالة تظهر أماكن البقع عديمة اللون مع خلفية زرقاء

وفى بعض الحالات الأخرى يستخدم الإنوكسيل أسيتات الذى يتحول فـــي وجود الإنزيم إلى إندوكسول وحمض الخليك :

Indoxyl actate $\xrightarrow[H_2O]{Enzyme}$ Indoxol + actic acid

ويزدوج الإندوكسول مع جزيء أخر ويعطـــي صبغـــة الإنديجوالزرقـــاء (Blue Indigo) والتى تظهر كخلفية لبقع عديمة اللون لتشبيط الإنزيم بها:

2 Indoxol + O_2 $\longrightarrow$ Indigo blue

ويجب مراعاة رش الألواح المعاملة بخـــلات الإندوكســيل بـــالبرومين بمجرد ظهور البقعة وذلك بغرض إيقاف النشـــاط الإنزيمـــى وعـــدم إتاحـــة الفرصه لزيادة الإمتزاز وبعد إيقاف التفاعل يمكـــن تغطيـــة الكرومـــاتوجرام بلوح زجاج أخر وتحكم حوافه باللصق لحفظ الكروماتوجرام .

وما هو جدير بالذكر أن أجراء التحاليل بهذه التقنية يزيد مـــن حساســية تقدير السموم بدرجة عالية مقارنة بالطرق الكيميائية وهو مـــا يتضـــح مـــن الجدولين التاليين رقم (٣-١٣) ، (٣-١٤) :

جدول رقم (٣-١٣): مقارنة لمستويات تتبع وتقدير ٢٣ من السموم الفوسفورية المطورة على ألواح تفريد ألومنيوم بطريقة إنزيمية وأخرى كيميائية .

مستوى التتبع بالنانوجرام بالطريقة الكيميائية	مستوى التتبع بالنانوجرام بالطريقة الإنزيمية	المركب
٢٠٠	٨	(Bromophos) بروموفوس
لم يتتبع	٣٠٠	دايكلورفوس(مشتق أكسيجيني)
١٣٠٠	٢٠٠	(Dimethoate) داىميثويت
٥٠٠	١٤	(methyl Parathion) ميثيل بارثيون
لم يتتبع	١٠	(methyl Paraoxon)ميثيل باراكسون
٧٠٠	٦	(Parathion) باراثيون
لم يتبع	٥	(Paraoxon) باراكسون
٧٠	٤٠	(Disulfoton) داىسلفوتون
٤٠٠	٦٠	(Ethion) إيثيون
١٠٠	٢٠	(Azinophos methyl)أزينفوس ميثيل
٥٠٠	٨٠٠	(Malathion) مالاثيون
٥٠	٥٠	(methyl trithion) ميثيل ترايثيون
١٠٠	٦٠٠	(Phoreate) فوريت
لم يتتبع	١٠٠	ميفينفوس (مشتق أكسيجيني)
٩٠٠	١٠	(Ronnel) رونل
٢٠٠	٥٠	(Diazinon) ديازينون
٨٠٠	٥٠	(Aldicarb) ألديكارب
١٠٠	٧	(Azinophos ethyl) ازينفوس إيثيل
٤٠٠	١٠	(Carbophenthion) كاربوفينثون
٦٠٠	٢٠٠	(Famphur) فامفير
١٠٠	١٠٠	(Dimethoate) داى ميثويت
٩٠٠	٩٠	(Dursbane) دورسبان
١٤٠٠	٨٠	(Abate) آبات

جدول رقم(٣-١٤) : مقارنة لمستويات تتبع وتقدير ١٤ مركب فوسفورى بإستخدام الطرق الإنزيمية والكيميائية :

المركب	مستوى التتبع بالنانوجرام بالطريقة الإنزيمية	مستوى التتبع بالنانوجرام بالطريقة الكيميائية
أزينفوس ميثيل (Azinophos methyl)	لم يتتبع	١٠٠
أزينفوس ميثيل (مشتق أكسيجيني)	٠,٠٠١-٠,٠٢٥	١٠٠
كومافوس (Coumaphos)	لم يتتبع	٥٠٠
كومافوس (مشتق أكسيجيني)	٠,٠١ - ١٠٠, ١	٥٠٠
مالاثيون (Malathion)	لم يتتبع	١٠٠ -٢٠٠
مالاكسون (Malaoxon)	٢-١٠	١٠٠
ميثيل بارثيون (methyl Parathion)	لم يتتبع	١٠٠
ميثيل باراكسون (methyl Paraoxon)	٠,٥-٢	١٠٠
باراثيون (Parathion)	لم يتتبع	١٠٠ -٢٠٠
باراكسون (Paraxone)	٠,٠٢٥-٠,٥	١٠٠
رونيل (Ronnel)	لم يتتبع	١٠٠
رونوكسون (Ronnoxon)	٠,٠٢٥	٥٠٠
نارلين (Narlene)	لم يتتبع	١٠٠
رولين (Ruelene)	٠,٢٥ -٠,١٠	١٠٠

تختلف أيضا الحدود التى يمكن تقديرها لكل مركب أو مجموعة من المركبات تبعاً لنوع أو مصدر الإنزيم ، جدول رقم (٣ - ١٥) حيث وجد أن إنزيمات كبد البقر تكون أكثر حساسية للمبيدات الفوسفورية عن إنزيمات كبد الخنزير والعكس صحيح بالنسبة لمركبات الكربامات وكذلك الإختلاف داخل نفس المجموعة كالمالاثيون والباراثيون فى درجة حرارة تثبيطها للإنزيمات المستخلصة من كبد البقر والخنزير . كما تلعب عملية تخفيف الإنزيم أيضاً دورا فى حساسية التقدير حيث أن الرش بالإنزيم المخفف يعطى حساسية أعلى من رش الإنزيم المركز :

جدول (٣ -١٥):مقارنة لمستويات التتبع والتقدير بالنانوجرام لبعض السموم باستخدام ثلاث أنواع من إنزيم الكولين إستيريز على ألواح من السيلكاجيل مستخدماً خلات الإندوكسيل كمادة تفاعل

المركب	مستوى التتبع بالنانوجرام		
	سيرم الحصان	بوفين كرات دم حمراء	Eel
نالبد (Nalid)	١	١	١٠
داي كلورفوس (Dichlorphos)	٥	٣٠	٤٠
داى ميثويت (Dimethoate)	٣٠٠	٢٠٠	٦٠٠
داى ميثوكسون (Dimethoxon)	٥٠	٥٠	١٠٠
ميثيل بارثيون (methyl Parathion)	٣٠	١	١٠
بارائيون (Parathion)	١	١	١
ديميتون-أكسيجيني (Demeton-O)	١٠٠٠	٢٠٠٠	٢٠٠٠
دايميتون-كبريتي (Demeton-S)	٢٠	٢٠	٥٠
تراى كلورفون (Trichlorfon)	١٠٠٠	١٥٠٠	١٠٠٠
كامفوس (Coumaphos)	١	٢٠	١٠
داى سلفوتون (Disulfoton)	٥٠	٥٠	٥٠
إيثيون (Ethion)	١	١٠٠	١٠٠
أزينفوس ميثيل (Azinophos methyl)	١	١	١
مالاثيون (Malathion)	٣٥	١	١
فوريت (Phorate)	٥	٥٠	٣٠
مفينفوس (Mephinphos)	١٠	٥	١٠
رونل (Ronnel)	٥	١٠٠	٢٠٠
ديازينون (Diazinon)	١	٥٠	٣٠
كاربوفينثيون (Carbofenthion)	٥	٥٠	٥٠
فوسفاميدون (Phosphamidon)	١٠	٢٠٠	١٠
فينسلفوثيون (Fensulothion)	٥	٢٠	٥٠
داىفونان (Diphonate)	٥٠	١٠	٢٠
EPN	٥	١٠	٥
فينوثيون (Phenthion)	١٠٠	٥٠٠	٣٠٠
ديوكساثيون (Dioxathion)	١٠	٢٠٠	١٠٠
فامفر (Famphur)	٢٠	٥٠	١٠٠

ويؤثر تعريض الألواح لبعض المعاملات كالبرومين أو للأشــعة فــوق البنفسجية على حساسية تقدير بعض المركبات حيث قد تؤثر نلك على درجــة تثبيط الإنزيمات ومعدلات السريان والتعرض للبرومين قبل تطوير الألـــواح يظهر زيارة عالية فى التثبيط لبعض السموم ، جدول رقم (٣ -١٦) :

<u>جدول (٣-١٦)</u>: مقارنة لمستويات التتبع والتقدير بالنانوجرام لبعض السموم الفوسفورية العضوية بإستخدام بعض المعاملات وبدونها :

المركب	بدون معاملة	معاملة بماء البروم ٠,٥/د	معاملة بماء البروم ١٥/ق	معاملة بالأشعة فوق البنفسجية ٢٠/ق	معاملة بمحلول الأمونيا ١٥/ ق
بيوتونات	لم يتتبع	لم يتتبع	لم يتتبع	لم يتتبع	٥
كومافوس	لم يتبع	٥	١	١	لم يتتبع
كومافوس (مشتق أكسجيني)	٠,٠٥	٠,٥	٠,٠٥	٠,٠٥	٠,١
داى سلفوتون	لم يتبع	٧	٥	٥٠	لم يتتبع
إيثيون	لم يتبع	٠,٥	٠,٥	٠,١	لم يتتبع
إثيوكسون	٠,١	٠,٢	٠,٢	٠,١	٠,١
أزينفوس ميثيل	لم يتتبع	٠,٢	٠,٠٥	١	لم ييتبع
أزينفوس ميثيل(مشتق أكسجين)	٠,٠٢	٠,٢	٠,٠٢	٠,٠٢	٠,٠٢
مالاثيون	لم يتتبع	٠,٥	٠,١	١٠	لم يتتبع
ملاكسون	٠,٠٥	٠,٥	٠,٠٥	٠,٠٥	٠,٠٥
أوكسي ديميتون ميثيل	١٠	١٠	١٠	١٠	١٠
ميثيل ترايتون	لم يتتبع	٠.٥	٠,٠٥	١	لم يتتبع
ميثيل ترايتون مشتق أكسجين	٠,٠٥	٢	١	٠,٥	١
فوريت	لم يتتبع	٥	٥	٥٠	لم يتتبع
فوريت أكسون	١	٥	٢	١	٢
ميفينوفوس	٠,١	لم يتتبع	لم يتتبع	١	لم يتتبع
رونل	لم يتتبع	١	٠,٠٥	٥	لم يتتبع
رونوكسون	٠,٠٥	٠,٥	٠,٠٥	٠,٠٥	٠,١

وعموما نجد أن تقنية تثبيط الإنزيم مع كروماتوجرافى الطبقـــه الرقيقـــة يتميز بالتخصص ومن ثم قد تســـتخدم كوســـيلة تأكيديـــة لنتـــائج التعـــرف والحساسية العالية وسرعة الأداء كما قد تستخدم فى الكشف والتقدير لنواتـــج التمثيل والتى تلعب دوراً فى التثبيط الإنزيمـــى لعـــدد كبـــير مـــن الســـموم والمركبات المتداخلة والتى قد تفوق طرق التحليل الاخرى ، جدولي رقـم(٣-١٧) و(٣-١٨) :

جدول رقم (٣-١٧) قيم معدل السريان لبعض السموم المطورة على ألواح سيلكا جيل بإستخدام أنظمة فصل مختلفة :

المركب	المستوى المتتبع بالميكروجرام بإستخدام الأشعة الفوق بنفسجية		المستوى المتتبع بالميكروجرام بدون الأشعة	
	إستيريز بوفين الكبد	التربسين	إستيريز بوفين الكبد	التربسين
بارا-بارا-ددت	٥(مع تنشيط الإنزيم)	١٠٠تتبع غير واضح	١	٦
بارا-بارا-ددد	٥(مع تنشيط الإنزيم)	١٠٠تتبع غير واضح	١	٦
بارا-بارا-ددإ	٦(مع تنشيط الإنزيم)	___	١	٦
ديكوفول	١	٧٠	١	٦
ميثوكسي كلور	٥(مع تنشيط الإنزيم)	٧٠	١	٦
بيرسان	٢(مع تنشيط الإنزيم)	___	١	٦
سادس كلوريد البنزين	___	___	١	٥
لندين	١	___	٠,٢٥	٢٠
أيزودرين	٥٠	١٠٠	٠,٢٥	٦
إندين	١٠	___	٠,٣٠	٧
بدرين	١	١٠٠تتبع غير واضح	٠,٢٥	٥
ديلدرين	١	___	١,٠	٧
هبتاكلور	١	___	٠,٢٥	٥
هبتاكلور ابيوكسيد	١ (تذييل)	___	٠,٣تتبع غير واضح	٧
كلوردان	٥ (تذييل)	___	١,٠ (تذييل)	٩
أيزوبنزان	٥	___	٠,٢٥	٦
إندوسلفان	٥	___	٠,٣٠	٧
توكسافين	١ (تزييل)	___	١٠ (تذييل)	٢٠

جدول رقم(٣-١٨): قيم معدل السريان لبعض السموم المطورة على ألواح سيلكا جيل :

المركب	مستوى التتبع بالنانوجرام بالطريقة الإتريمية بسيرم إستريز الخيل ثم نيتروبنزين بيريدين (NBP)	مستوى التتبع بالنانوجرام بالطرق الكيميائية الإظهار بأكسدة النواتج بالبرومين
الرونل	٠,٩١	٠,٨٣
كاربوفينثيون	٠,٩٠	٨٨. (٠,٥٥)
كاربوفينثيون(مشتق أكسجين)	__	٠,٨٨
كاربوفينثيون(مشتق أكسجين+سلفوكسيد	__	٠,٥٠
فوريت	٠,٧٩	٠,٩٠ (٠,٤٧)
دايفونات	٠,٧٥	٠,٦١
إيثيون	٠,٧٤	٠,٤١
EPN	٠,٧٤	٠,٨٢
فينثيون	٠,٧١	٠,٥٠ (٠,٢٥)
داي سلفوتون	٠,٧١	٠,٢٢
باراثيون	٠,٦٧	٠,٧٢
ميثيل باراثيون	٠,٦٠	٠,٥٦
ديميتون (ثيونو)	٠,٤٥	٠,٨٢ (لم يتمكن اظهاره مره اخرى باعادة
داى أوكساثيون	٠,١٦ (٠,٣٥)	٠.٣٧ (٠,٢٦)
كومافوس	٠,٢٤	٠,٥٩
ملاثيون	٠,١٢	٠,٦٥
أزينيفوس ميثيل	٠,٠٧	٠,٤٤
ديازينون	٠,٠٧	٠,٥٣

والجدول التالي رقم (٣-١٩) يوضح قيم السريان لعدد من السموم تم تطويرها علي ألواح من السيليكا جيل بإستخدام ٢٥ % هيبتان في الإيثيل أسيتات أو الإيثيل أسيتات ثم تم الإظهار بعد أكسدة المركبات بالبرومين وبإستخدام كولين إستيريز سيرم الخيل مع بارا-نيترو بنزين بيريدين .

جدول (٣-١٩): قيم معدل السريان لبعض السموم المطورة على ألواح سيلكا جيل :

المركب	مستوى التتبع بالنانوجرام بالطريقة الإنزيمية	مستوى التتبع بالنانوجرام بالطريقة الكيميائية
فامفور (Famphur)	٠,٨٧	٠,٦٤
ناليد (Nalid)	٠,٨٢	٠,٩٦
ديميتون (ثيول) (Demeton-S)	٠,٧٦	٠,٥٢
داى كلورفوس (Dichlorphos)	٠,٧٠	٠,٨٩
مفينفوس (Mephinophos)	٠,٥٤	٠,٧٩
فوسفاميدون (Phosphamidon)	(٠,٤٨ ، ٠,٢٣)	٠,٧٧ (٠,٥١)
داسانيت (Dasanite)	٠,٤٠	٠,٦٦
داي ميثويت (Dimethoate)	٠,٣٤	٠,٣١
تراى كلورفون (Trichlorphon)	٠,٢٥	(٠,٥٥) ٠,٨٩
داى ميثويت (مشتق أكسيجيني)	٠,٠٥	٠,١٣

أهم الجواهر الكشافه المستخدمة فى إظهار وتتبع بعض السموم :

١-بالنسة للسموم الكلورونية العضوية (Chlorinated hydrocarbons) :

١-١-يتم الإظهار بالرش بجوهر نترات الفضة وهى تطوير لجوهر طريقة ميتشيل (Mitchell,s) وتتلخص في إذابة ١,٧ جم من نترات الفضة ٢٠ ملل

ماء ثم يضاف ١٠ ملل من مركب : ٢-فينوكسي إيثانول ثم يخفف الـى ١٩٠ ملل بالأسيتون . وقبل الرش به يضاف ١ ملل هيدروكسيد أمونيوم مركز إلي ١٩ ملل من نترات الفضة كمحلول قياسي مركز ويجب حفظ المحلـــول فـــى الظلام أو زجاجة جدرانها قاتمة لا تنفذ الضوء .

حيث يتم رش الألواح بكثافه بمحلول نترات الفضة ثم يجفف في الـــهواء لعشرة دقائق ثم يعرض للأشعة فوق البنفسجيه لمدة ٣ - ٥ دقيقة وعند زيـادة الرطوبه بالمعمل يسخن فى فرن على درجة ١١٠ °م/ ٥ دقائق ويعاد عمليـــة الرش إذا لم تظهر البقع بدرجة واضحة ثم تعرض للأشعة فوق البنفسجية مـــن ٢-٣ دقيقة .

١-٢-ويمكن استخدام البرومين والفلوروسين والبروموفينول بلو مع محلـــول نترات الفضة كذلك يمكن إستخدام الرودامينB(Rhodamine-B) ثم التعريـــض للضوء فوق البنفسجي .

٢-بالنسبة للسموم الفوسفورية العضوية (Oranphosphates poisons) :

٢-١-يمكن إستخدام نترات الفضة كجوهر كشاف مع أزرق البروموفينول أو مع تتربرموفينول فيثالين ايثيل إستر .

٢-٢-وقد يرش الكروماتوجرام بمحلول ٢% بارا-نيـــترو بـــنزيل بـــيريدين فيالأسيتون ثم يعرض لدرجة ١١٠ °م/ ١٠ ق ثم الــــرش بمحلـــول ١٠% تترايثيلين بنتامين فى الأسيتون بغزارة حيث تظهر بقعــــة المركـــب بلـــون بنفسجى مزرق .

٣-بالنسبة للسموم الفوسفورية العضوية المحتوية على كبريت (Thiophosphate) :

يتـــم رش الكرومـــــاتوجرام بالأيودوبلاتينـــــات (Iodoplatinate) أو الكلوروبلاتينات (Chlorplatinete) أو مركب :٢،٦-داى برومو-ن-كلـــورو- بارا-بنزوكينون إيمين (2,6-dibromo-N-chloro-p-benzoqinon imine) ويســـتخدم هذا المركب للكشف عن الثيوفوسفات وكذلك الثيوكرباميت .

ويتم تحضير الأيودو بلاتينات بأضافة ٣ ملل كلوريد بلاتينيـوم (١٠ %) + ٩٧ ملل ماء + ١٠٠ ملل يوديد بوتاسيوم (٦%) ويخزن فى الظلام.

وقد يرش الكروماتوجرام بغزارة من محلول تترا برموفينول فيثالين ايثيل إستر (٠,٢%) فيتحول لون الكروماتوجرام باللون الأزرق ثم يرش رش خفيف بمحلول نترات الفضة (٠,٥ جم نترات فضة +٢٥ ملل ماء+٧٥ملل أسيتون) فيتحول الكروماتوجرام إلى اللون البنفسجي المزرق مع ظهور البقع ثم يرش الكروماتوجرام بعد دقيقتين بمحلول حمض الستريك (٥ جم حمض الستريك + ٥٠ ملل ماء + ٥٠ ملل أسيتون) رشا معتدلاً فتظهر البقع الزرقاء على خلفية صفراء والتقديرات خلال عشرة دقائق .

٤-بالنسبة للسموم من مشتقات اليوريا و ن - أريل كاربامات :
حيث يرش الكروماتوجرام بواسطة ١٠ ملل من حامض الكبريتيك المخفف (١:١) والتسخين على ١١٠° م / ١٥ دقائق ثم يتم التبريد على درجة حرارة الغرفة ثم الرش بمحلول حامض النيروز (١ جم نترات صوديوم + ٢٠ ملل حمض هيدروكلوريك ٠,٢ عياري وبعد تمام الجفاف يتم الرش بمحلول ا-نافثول فتظهر البقع بلون بنفسجى .

٥-بالنسبة للسموم من مشتقات أريل كاربامات (O – Aryl Carbamate) :
يرش الكروماتوجرام بواسطة ١٠ ملل من محلول ١% (٦,٢ - داى بروموكينون كلورايمين) فى الكلوروفورم ثم يتم التسخين على درجة ١١٠ °م/١٥ دقيقة حيث تظهر بقع المركبات بألوان مختلفة تقارن بألوان البقع القياسية لها ثم يرش الكروماتوجرام بمحلول منظم لبورات الصوديوم ٠,١عياري فى الماء حيث يؤدى ذلك إلي تغير فى اللون وتتم المقارنة أيضا ببقع المحاليل القياسية للتأكد من صحة النتائج .

٦-بالنسبة للسموم من مشتقات الروتينون (Rotenone) :
يتم تتبع الروتينون بإستخدام جوهر Dragendorlf والخاص بالألكالويدات ويتكون من محلول كربونات البزموت (Bismuth carbonate) :٢,٦ جم و يوديد صوديوم ٧,٠ جم ثم يغلى لعدة دقائق مع مع ٢٥ ملل حمض خليك ثلجى وبعد ١٢ ساعة تترسب نللورات خلات الصوديوم التى يتم ترشيحها بإستخدام قمع (Sintered) يؤخذ ٢٠ ملل من الطبقة الرائقة الحمراء البنية ثم

تخلط مع ٨ ملل خلات إيثيل وتخزن في زجاجات بني لحين الإستعمال.

ويتم رش الكروماتوجرام من خلال أخذ ١٠ ملل من المحلـــول القياســـي وتخلط مع ٢٥ ملل حمض خليك ثلجي و ٦٠ ملل من خلات الإيثيـــل وبعـــد الرش تظهر بقع الألكلويد (مع عدد من المركبات والمحتوية على ذرات مـــن النيتروجين حرة) بصورة بقع برتقالي .

ويمكن الحصول على حساسية أكـــبر بـــالرش بواســـطة ٠,١ - ٠,٠٥ عياري حمض كبريتيك فتحول الخلفية إلى اللون الرمـــادى (Gray) والبقـــع تصبح ذات لون برتقالى داكن (مكثف) .

٧-بالنسبة للسموم البيريثرويدية والمنشط ببرونيل بيوتوكسيد (Pyrethroids & piperonyl butoxide) .

٧-١-يمكن إستخدام محلول أحماض الفوسفوريك والتانيك والخليك لإظـــهار البيريثرينات والببرونيل بيوتوكسيد حيث تعطي بقع لونها بنفسجى فـاتح(Pink) بينما يعطى الببرونيل بيوكسيد بقع زرقاء أو زرقاء مسودة .

٧-٢-كذلك يستخدم حمض الفوسفوموليبديك والتانيك والخليك بخلط ٣ملـــل من محلول ٨٥ % من حمض الفوسفوريك و ١ ملل من محلول ٠,٣٣ % من حمض التانيك في حمض الخليك و ٢٦ ملل أسيتون ويجهز المحلـــول قبـــل الرش مباشرة .

٧-٣-أستخدم Stahl محلول حمض الفوسفوموليبدك ويجهز بإذابة ١٠ جـرام + ١٠٠ ملل إيثانول ويحضر قبل الرش مباشرة ويعطي بقع زرقـــاء علـــى خلفية صفراء .

٧-٤-كما يستخدم ٢.٤-داى نيـــتروفينيل هيدرازيـــن (2,4-dinitro phenyl hydrazine) ويوديد البوتاسيوم مع النشا لبيروكسيد البيريثرين كمـــا تســـتخدم ثالث كلوريد الانتيمون (Antimony chloride) أو خـــامس كلوريـــد الأنتيمـــون للبيريثرينات .

٨-تثبيط الإنزيم مع كروماتوجرافى الطبقة الرقيقة بطريقة غير مباشرة : (Indirect TLC–EI)

وفى هذا التقنية تبصم مواضع السموم المثبطة للإنزيم من على الألـــواح إلى ورق ترشيح مشبع بالجوهر الكشاف يوضع على الكروماتوجرام وهــــي أقل حساسية من الطريقة المباشرة .

التقدير الكمي بكروماتوجرافى الطبقة الرقيقة (Quantitative T.L.C) :

يجري التقدير الكمى لمركب بعد فصله وتعريفه (Separation & Identification) كروماتوجرافيا بإستخدام التفريد اللونى الرقيق باحدى الطرق التالية:

١ - الطرق المرئية : التقيم بالعين المجردة (Visual techniqes) :

يتم التقدير الكمى بالمقارنة بالعين (In situe) للبقع المتكونـــة والتـــى تـــم إظهارها بمقارنتها ببقع نفس المركبات ولكن القياسية والمعلومة التركيز تحـت نفس الظروف المستخدمة من حيث نوع وسمك طبقه الطور الثابت وكذلـــك نوع الطور المتحرك ودرجة حرارة الفصل . وهنا يجــب الإلمـــام بطبيعـــة المواد المتداخلة مع مادة العينة لإحتمال التلوث الناجم عنها .

٢ - قياس مساحة البقعة (Spot area detrmination) :

حيث تتم تقدير مساحة البقعة على اللوح ويفضـــل إجــراء ذلـــك بعـــد تصويره فوتوغرافيا وذلك بإستخدام عدة طرق أفضلها إســتخدام البلانيميـــتر (Planimeter) مع توخى الحذر حتى لا تتكسر الطبقة المدمصة فكلمـــا زادت مساحه البقعة زاد التركيز ثم يتم ترجمة المساحة الى تركيز من خلال منحنـى قياس يطبق فيه تركيزات متدرجة متصاعدة من المركـــب القياســـي النقـــى للمركب المفصول والمساحات الناتجة عنها وهنا يجب تماثل ظروف التجربـــة من حيث تماثل نوعية مادة الإدمتصاص المنفذ عليها المنحنى وسمك طبقتـــها وظروف التنشيط والتهيئه وهنا تكون للتجربة القدره علـــى إعـــادة النتـــائج متماثلة مرة أخرى (Reproducibility) كما يراعى تحديد الحـــدود الخـــارجية المحيطة للبقعة بدقة خاصة عقب الإظهار مباشرة حتى لا يضيع شدة اللـــون ويحدث تقلص لمساحة البقعة وتتلاشى حوافها . ويمكن نسخ هذه البقع علـــى ورق ملليمترات بدلا من إستخدام البلانيميتر وهنا يتم حساب مساحتها سريعا.

٣ - طريقة الكشط والإزاحة (Escratch & Elution techniqe) .

وفيها يتم كشط طبقه الدعامة بحدود البقعة المراد قياس تركيزها كمياً ثـــم تجمع مادة لدعامة المكشوطة فى أنبوبة إختبار ثم يضاف إليها حجم معين من المذيب المناسب (٣ ملل) لإزاحتها من مادة الإدمصاص ثم تقديـــــر الكثافـــة الضوئية للون الناتج .

ويتم تحديد البقعة المراد تقدير مكونها كمياً من خلال :

أ - إجراء عملية الفصل والتطوير مزدوجة وتحت نفس الظروف من حيـــث سمك ونوعية مادة الادمصاص ونوع وتركيب ونسبة الطور المتحرك ودرجة الحرارة وبعد التطوير يتم إظهار (Detection) إحدي الكروماتوجرافين بالمظهر لتحديد أماكن بقع المكونات بينما يترك الأخر بدون إظهار وذلـــك لمضاهـــاة أماكن البقع عليها ثم كشط البقع بالكروماتوجرام الثانى بعد تحديد أماكن البقع

ب - يمكن تحديد أماكن البقع بالكروماتوجرام الذى لم يظهر بواسطة الأشـــعة فوق البنفسجية فبعض المركبات تمتص بشدة الأطوال الموجية بالأشعه الفـوق بنفسجية فيظهر مكان البقع بصورة فلورسينية أو فى صـــــورة بقـــع زرقـــاء خلفيتها فلورسينية فيتم تعليم مكانها أستعدادا لكشطها وإستخلاصها.

ج - أماكن بقع المواد الليبيدي الليبوفيلية (Lipophilic) يسهل تحديدها بســـــهولة برش الكروماتوجرام بماء مقطر فى صورة رذاذ ثم وضع اللوح فى الضـــوء فتصبح هذه البقع منفذه للضوء فتعلم وتكشط لإستخلاصها .

د - أو قد تعرض بقع المواد الليبيدية لبخار اليود فى جار مقفل فتتلون بلـــون بنى مصفر ثم يحدد مكانها وتكشط سريعا .

وبأى من الطرق السابقة يتم تعليم حدود البقع الخارجية ثم يتـــم الكشـــط وتجميع طبقات المادة المكشوطة فى أنبوبة إختبار ثـــم تتـــم عمليـــه إزاحـــة للمركب من مادة الإدمصاص (Elution of solute from adsorpent) بمذيب مناســـب يتناسب وطبيعة المكون المفصول ويجرى ذلك بعيدا عن التيـــارات الهوائيـــة كالمراوح أو أجهزة التكييف حتى لا تتطاير أى أجزاء من المادة المكشـــوطة فيقل تركيزالعينة عن التركيز الفعلى وقد يتم تجميع الكشـــط بواســـطة أدوات خاصة شافطة لذلك (Suction devices) ونقلها لأنبوبـــــة إختبـــارتحتوى علـــى المذيب المناسب وبحجم مناسب ثم يتم إزاحتها من مادة الكشط سواء بالرج

لفترة أو بتدفئة الأنبوبة قليلا لمساعدة المذيب على أخـذ جزيئـات المركـب بالبقع أو بالطرد المركزى أو بتركها فترة بالنقع (Soaking) حتـى يحـدث إتزان وذلك بهدف الحصول على معدل إسترجاع عالى (High recovery rate).

وقد تستخدم أعمدة كروماتوجرافية دقيقة (Micro columns) يوضع به المادة المراد كشطها ثم يضاف المذيب المناسب للعمود ويستقبل المترشـح بأنبوبـة جهاز قياس الألوان التقديرى .

ومدى الإسترجاع يتوقف على نوع وكميـة المذيـب المسـتخدم فـى الإزاحة وذلك تبعا لنوع وطبيعة تركيب الجزيئى المنفصل بـالبقع وهنـا لا يجب وأن يدخل فى نظام المذيبات المستخدمة فى الإزاحة الماء حيث يدخـل فى تركيب المادة المدمصه كبريتات كالسيوم كمادة رابطة (Binder) كما توجـد بعض مكونات أخري بالطبقة تزاح مع المذيب القطبى كالايثانول أو المحتـوى على الماء .

كذلك إذا كانت قيمة معدل السريان للمركب المفصول أكبرمن ٠,٨٠ % فإن المذيبات أو المذيب المستخدم فى الطور المتحرك يمكن إسـتخدامه فـى الإزاحة بكفاءة عالية . كما يمكن إسترجاع المكون بمذيبات غير قطبية بعـد رش الكروماتوجرام بكمية قليلة من الماء فيفقد المادة المدمصة نشاطها . كمـا يراعى ان يكون المذيب استخدام عالى النقاوه .

أما عند إستخدام الإسبكتروفوتومتري فى التقديـر فيجـب وأن يكـون امتصاص مذيب الإزاحة ضعيف والا يتم تبخيره أولا ثم يذاب المكـون فـى مذيب أخر نقى للتقدير بإستخدام طيف الأشعة الفوق بنفسيجية .

كذلك يراعى أن يكون المذيب المحتوى على جزيئات المكون خالى مـن أى جزيئات دقيقه من مادة الإدمصاص فوجودها قد يحـدث تفـرق وتبعـثر الضوء المار خلالها عند التقدير (Light scatering) وإذا إستدعى الأمـر يتـم ترسيبها بالطرد المركزى وهو أفضل مـن ترشـيحها حيـث يمتـص ورق الترشيح بعض الجزيئات .

وقد يزيح المذيب بعض الشوائب والتى قد تكون موجـوده بتركـيزات دقيقه جدا مثل الحديد والكلوريد أو أى مواد اخرى يمكن أن يمتصها المذيـب من المحيط الخارجى أثناء العمل .

ويتم قياس تركيز المكون بالبقعة والمذاب فى المذيب المناسب بـالتقدير الأسبكترفوتومترى على طول موجى مناسب أما إذا كانت جزيئات المكون غير ملونة فيمكن تفاعله مع جوهر كشاف فتعطى لون ثابت يمكن قياس كثافته الضوئية أو قد يتم تقديرها بجهاز الكروماتوجرافى الغازى أو بالأشعة التحت الحمراء أو بالرنين الفوق مغناطيسى .

٤-طريقة قياس كثافة اللون (Spectrodensitometers) :

سواء أكانت هذه الطريقة تبنى فكرتها على النفاذيه للضوء خلال البقعة ثم تعين كمية الإمتصاص (Absorption) أو النفاذية (Transmittance) أى على (Transmission scanning mode) أو علي فكرة الإنعكاس Reflection scanning) methode) أو بالفحص الفلوروسيني (Fluorescence scanning).

وتعد النتائج المتحصل عليها للتقدير الكمى من التقدير على نمط النفاذية أكثر كفاءة ودقة من نمط الإنعكاس وسوف يتم التحدث عن ذلك تفصيلا فى باب لاحق .

العوامل المؤثرة على معدل السريان وإستعادة النتائج (Reproducibility):

١-تأثير سمك الطبقه (Layer thikness)

تعطى ألواح التفريد اللونى المتجانسة فى سمك طبقتها قيم لمعدل السريان ثابتة عند تكرار إعادة التجربة مع دقة تصل إلى ($R_f \pm$ %.05) . أما اذا كانت الطبقة غير متجانسة السمك أي بها مناطق يقل فيها السمك فيختلف معها قيم معدل السريان .

كما يؤدى إختلاف سمك الطبقة فى بعض المناطق لظهور حرارة إدمصاص تتفاوت بتفاوت سمك طبقة الإدمصاص والتى تزداد بزيادة سمكها وهنا يكون معدل السريان منخفض ولكن إرتفاع الحرارة يؤدى إلى زيادة معدل السريان .

أما بالمناطق قليلة السمك فيحدث فيها إحلال سريع لبخار المذيب المستخدم فى التطوير محل الماء بالألواح المنشطة جزئيا فتزداد قيمة معدل السريان (والعكس صحيح) .

٢-تأثير الرطوبة علي مادة الإدمصاص :

تؤثر الرطوبة ومحتواها بمادة الإدمصاص على نشاطها وبالتالى على قيمة معدل السريان فتزداد قيمة معدل السريان بزيادة نشاط مادة الإدمصاص.

٣-تأثير درجة تشبيع الكابينة (Champer saturation effect):

تؤثر درجة تفاوت تشبيع كابينة الكروماتوجرافي على قيمة معدل السريان فإذا كانت غير مشبعة يحدث تطاير للمذيب المتحرك من على الطبقات أثناء التطوير (Developing) مما يؤثر بدوره على معدل السريان .

ويزداد أهمية هذا العامل خاصة إذا كان المذيب المستخدم فى التشبيع هو نفسه المستخدم فى الطور المتحرك وتزداد الأهمية أكثر عندما يتم التطوير به عدة مرات علي نفس الكروماتوجرام كذلك يراعى عدم فتح الكابينة إلا عند الإنتهاء من التطوير ورفع لوح الكروماتوجرافى ففى كل مرة تفتح فيه الكلبينة يتغير الضغط البخارى فتزداد نسبة ما يتبخر من المذيب على مادة الإدمصاص علاوة على تغير محتوى الرطوبي أيضا داخل الكابينة وبالتالي تغير درجة القطبية .

٤ ـ تأثير درجة الحرارة (Temperature) :

يؤدى إرتفاع درجة الحرارة أحيانا فى إرتفاع قيمة معدل السريان وذلك نتيجة زيادة معدل تبخير المذيب من الطور المتحرك على الطبقة المدمصة باللوح .

كما أن إرتفاع درجة الحرارة يؤدى إلى إختلاف معدل ذوبان المذاب فى الطور المتحرك .

كذلك قد يؤدى إرتفاع درجة الحرارة إلى حدوث تفاعل داخلى بين الطور المتحرك ومادة الإدمصاص ، جدول رقم (٣-٢٠) .

جدول (٣ -٢٠) : تأثير إختلاف درجات الحرارة أثناء التطوير على قيم معدل السريان :

المركب	قيم معدل السريان (R_f × 100) على درجات حرارة مختلفة					
	-٢٠°م	صفر	١٠°م	٢٠°م	٣٠°م	٤٠°م
ألدرين	٣٣	٥٥	٦٨	٧٧	٨٥	٩٠
بارا , بارا – ددا	٢٧	٤٩	٦٠	٧٠	٨٠	٩٠
أورثو , بارا–ددت	٢٠	٣٧	٥٠	٥٨	٦٨	٧٧
بارا – بارا – ددت	١٧	٣١	٤٠	٤٨	٥٨	٧٠
ديلدرين	١	٧	١٠	١٢	١٢	١٢
إندرين	٢	٩	١٠	١١	١٢	١٢
هيبتاكلور	٢٢	٤٥	٥٥	٦٥	٧٥	٨٦

٥ – تأثير عمق وسط التطوير (Developing phase depth effect) :

يؤثر عمق وسط التطوير وهو المسافة بين مستوى الطور المتحرك ونقطة تطبيق العينة على قيم معدلات السريان والتى تتوقف على نوعية مادة الإدمصاص ونوعية المركب المفصول والمذيب أو نظام المذيبات المستخدم فى الطور المتحرك .

٦–تأثير نوع وطبيعة مادة الإدمصاص (Sorbent type & nature effect) :

تؤثر نوعية وطبيعة مادة الإدمصاص على الوقت المستغرق فى عملية التطوير لعمق معين ولكن ليس لها تأثير كبير على قيمة معدل السريان .

كما أن لعملية تنشيط مادة الإدمصاص أهميتها فتسخين الألواح لدرجة حرارة تتراوح بين ١٠٥ – ١١٠ °م / ساعة يؤدي إلي التخلص من الرطوبة ومن أية شوائب أخرى أيضا .

كما يلاحظ أن لصفات مادة الإدمصاص الطبيعية دورها الهام في أثناء عملية التطوير مثل :

- حجم حبيبات مادة الإدمصاص ودرجة توزيعها أثره فى عملية التطويـــر وبالتالى على قيمة معدل السريان .
- طبيعة نظام المسام الشعرى (Pore system) بمادة الإدمصاص أثره على معدل السريان .
- كما يختلف معدل السريان بتفاوت نسبة المواد الإضافيـــة الأخـــرى الموجوده بجانب المادة الفعلية الموضوعة فى التجهيزة ، جدول رقم (٣-٢١) .

جدول رقم(٣-٢١): تأثير طبيعة مادة الإدمصاص وكذا نظام المذيبات المستخدم على قيم معدل السريان لبعض السموم الكرباماتية :

أسم المركب تركيز ٥ نانوجرام	سيلكاجيل G		سيليكاجيل (D-5)		سيليكاجيل H		سيليكا -AR TLC-7		ألومنيوم أكسيد DS-5	
	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩	١٠
ألديكارب	43	14	38	8	43	17	*	*	60	20
بانوب	64	26	55	18	63	28	*	27	73	42
بايجون	57	22	42	14	49	22	47	23	63	20
كارباريل	46	18	33	12	51	22	52	26	27	20
كاربوفيوران	45	18	33	12	51	21	53	26	27	20
كاربوفيوران3OH)	20	5	12	2	10	8	20	13	3	0
ميتاسيل	45	18	33	12	51	21	47	21	27	22
ميزرول	54	22	47	18	60	27	62	33	63	27
مويام	45	14	33	9	51	20	47	26	52	16
ترانيد (Tranid)	12	3	7	1	16	4	15	5	3	0
زكتران	64	24	61	14	71	30	60	39	73	30
أورثو (5353)	65	25	61	19	68	32	60	35	73	30

١- ٢٠% أسيتون + ١٠% بنزين في الهيبتان
٢- ٢٠% أسيتون في الهكسان
٣- ٢٠% أسيتون + ١٠% بنزين في الهيبتان
٤- ٢٠% أسيتون في الهكسان
٥- ٢٠% أسيتون + ١٠% بنزين في الهيبتان
٦- ٢٠% أسيتون في الهكسان
٧- ٢٠% أسيتون + ١٠% بنزين في الهيبتان
٨- ٢٠% أسيتون في الهكسان
٩- ٢٠% أسيتون + ١٠% بنزين في الهيبتان
١٠- ٢٠% أسيتون في الهكسان

*بقعة غير محددة

جدول (٣-٢٢):تأثير نظام المذيبات المستخدم فى التطوير على ألواح كسيلجيل(G-HR) لسموم كارباماتية على قيم معدل السريان

المركب	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩	١٠	١١	١٢	١٣	١٤	١٥	١٦	١٧	١٨	١٩	٢٠
الديكارب	20	33	66	60	45	50	62	23	21	27	33	35	25	32	29	30	0	75	33	11
بانول	23	38	77	72	65	57	84	40	35	39	46	47	39	40	40	32	3	79	45	33
بايجون	27	40	76	63	50	53	77	28	30	32	35	33	38	35	27	25	1	76	35	11
كارباريل	24	38	75	63	43	57	77	28	29	28	35	27	25	27	32	24	1	75	35	25
كاربوفيو	26	39	71	61	44	43	80	29	20	27	37	38	31	33	31	24	2	76	33	8
كاربوفيو	6	13	23	22	32	35	28	27	7	7	33	20	15	19	7	5	0	55	39	0
ميتاسيل	27	37	75	67	54	55	70	28	28	33	39	40	30	37	33	25	2	70	33	7
ميزرول	32	48	77	72	64	61	80	40	35	39	45	51	39	43	37	31	0	77	37	30
موبام	22	37	71	61	50	52	69	26	25	28	35	37	27	33	32	21	3	76	33	23
O-5353	37	53	80	77	68	65	89	44	39	41	51	53	40	47	40	33	5	78	43	33
زكتران	35	48	79	77	66	61	86	58	37	40	46	47	40	47	39	33	5	77	43	27

١- ٢٠% أسيتون /سيكلوهكسان
٢- ٢٠% أسيتون + ١٠% بنزين في الهكسان
٣- ٢٠% أسيتون /بنتان
٤- ٢٠% أسيتون /بنتان *
٥- ٣٠%أسيتون في الهكسان
٦- ٣٠%أسيتون في الهكسان *
٧- ٢٠% أسيتون + ١٠% بنزين في البنتان
٨- ٢٠%أسيتون في الهكسان المشبع بالميثانول
٩- ٢٠%أسيتون في الهكسان
١٠- ٢٠%أسيتون في الهكسان والسيكلوهكسان
١١- ٣٠%أسيتون في السيكلوهكسان
١٢- ٣٠%أسيتون في السيكلوهكسان*
١٣- ٣٠%أسيتون في الهبتان
١٤- ٣٠%أسيتون في الهبتان*
١٥- ٣٠%أسيتون في البنتان والهكسان
١٦- ٣٠%أسيتون في الهبتان والهكسان
١٧ -سيكلوهكسان
١٨ -إيثانول
١٩- ١٠%إيثانول+ ١٠%بنزين+ ٢٠%أسيتون بالهبتان
٢٠ -كلوروفورم

* ألواح مجهزة بالأجار-أجار

جدول رقم (٣-٢٣) : تأثير طبيعة مادة الإدمصاص ونظام المذيبات المستخدم على قيم معدل السريان لبعض السموم :

أسم المركب	أكسيد ألومنيوم		سيليكاجيل					سيليكا جيل
	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨
ألدرين	95	82	70	67	64	69	58	98
α بنزين هكسا كلوريد	87	63	34	52	28	43	-	69
γ-بنزين هكساكلوريد	78	55	21	46	18	37	-	58
بارا, بارا-ددإ	95	78	65	65	57	62	74	98
أورثو, بارا-ددت	89	73	50	59	46	58	50	90
أورثو ,بارا-ددت	89	69	42	57	39	54	52	91
بارا , بارا-ت دإ	93	75	53	49	53	62	67	98
دایکلوروبنزوفينون	31	55	14	59	27	48	-	-
ديلدرين	37	52	12	65	48	48	30	58
إندوسلفان -أ	65	64	17	58	35	52	-	-
إندوسلفان -ب	4	9	2	12	-	-	-	-
إندرين	51	61	13	49	26	52	-	-
هبتاكلور	95	78	58	95	53	62	48	98
هبتاكلور إيبوكسيد	99	57	17	39	-	-	-	-
ميثوكسي كلور	—	-	-	-	10	36	28	-
بارا , بارا-ت د إ	71	57	25	52	26	46	67	77

١-هكسان
٢-بتروليم إيثر(٩٤) +بارافين سائل(٥) +ديوكسان(١)
٣-هكسان
٤-بترولیم إيثر(٩٤) + بارافين سائل(٥) + ديوكسان(١)
٥-بترولیم إيثر(٤) + بارافين سائل(١)
٦-سيكلوهكسان(٧) + بارافين سائل(٢) + ديوكسان(١)
٧-سيكلوهكسان(٩) + بارافين سائل(١) + بنزين(٩)
٨-سيكلوهكسان(٩٢) + سيليكون(٨)

جدول رقم (٣-٢٤): تأثير نظام المذيبات المستخدم ونوع الطبقة على معدلات سريان بعض السموم الفوسفورية العضوية

المركب	سيليكا جيل			Kielselguhr / Silica gel		Kielselguhr / Alumina			
	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩
أزينفوس ميثيل	٥	١٤	٢٤	٠	٢٧	٠	٣	٥٨	٠
كاربوفينثيون	٥٢	٦٦	٨٠	٤٥	٩٦	٣٦	٣٩	٩٢	٢٧
كلورثيون	١٦	٢٧	٥٢	١١	٥٢	١٠	١٢	٨١	٩
داي كلورفوس	٤	١٠	١٧	٣	٢٣	٠	٠	٣	٠
داي ميثويت	٢	٤	٧	٠	٢	٠	٠	١٢	٠
إيثيون	٦٠	٨٢	٨٨	٣٨	٩٦	٥٠	٥٧	—	٣٩
فينكلورفوس	٥٠	٦٨	٨١	٦٠	٩٦	٦٤	٦٨	٤٣	٤٥
مالاثيون	١٢	٢٩	٤٥	٠	٥٧	٠	٢	٨١	٠
باراثيون	٣٧	٦٢	٧٢	١٤	٨٠	١١	١٨	٩٠	٩٥
فينكاثيون	٥٤	٧١	٨٤	٤٣	٩٥	٤٣	٣٨	٩٠	٣٠
فوريت	٦٠	٧٥	٨٤	٣٣	٩٦	٣٩	٤٤	٩٢	٣٢
فوسفاميدون	٢٢	٤٤	٦٥	٢	٠	٠	٠	٧٨	٠
ثيوميتون	٤٦	٦١	٦٦	١٨	٩٠	٢٣	٣٦	٩٠	٠

١-هكسان:أسيتون (١:١٩)
٢-هكسان:أسيتون (١:٩)
٣-هكسان:أسيتون (١:٦)
٤-بتروليم إيثر
٥-سيكلوهكسان : أسيتون (١:٩)
٦-سيكلوهكسان
٧-بتروليم إيثر
٨-سيكلوهكسان : أسيتون (١:٩)
٩-هكسان : بارافين (١:٢٠)

٧-تأثير درجة حموضة الوسط (Medum pH effect) :

تختلف مواد الإدمصاص من حيث درجة حموضتها والتى تتفاوت قيمتـــها فى المادة الواحدة من مصنع لأخر للإختـــــلاف فـــى التحضـــير والتجـــهيز وظروف التخزين مما يؤثر بدوره في النهاية على قيم معدل السريان للمركب المفصول .

٨-تأثير المذيب : الطور المتحرك (Mobile phase) :

وقد سبق التكلم عن تأثيره .

٩-تأثير البقعة (Spot size effect) :

يتأثر حجم البقعة وشكلها (Spot size & shape) سواء أكانت فـــي صـــورة مستديرة أو مزيلة أو مفلطحة ويرجع ذلك لكمية التركيز المنقط فكلمـــا زادت التركيز المستخدم كلما زادت حجم البقعة عند التنقيط أي على خـــط البدايـــة كلما زادت حجم البقعة المفصولة نتيجة التطوير والإظهار .

وقد يكون لطبيعة تطبيق مادة أو مواد الإظهار أثره أيضا علي حجم وشكل البقعة وقد يكون لطبيعة تطبيق مادة أو مواد الإظهار أثره أيضا علي حجم وشكل البقعة وقد ينجم عن تزييل فيكون من الصعوبة بمكان التحديد الدقيق لقيم معدلات السريان .

تفاعلات التحول (Conversion reactions) :

يكون لبعض جزيئات السموم المقدرة علي إعطاء فلورسنس طبيعي لكنه في غالب الأمر لايكون كافي لإجراء عمليات التقدير الكمي ولذا يكون من الضروري والحاجة إلي إجراء بعض المعاملات التي من شأنها إحداث تغيرات في طيف الإشعاع وكثافته من خلال تعريض الكروماتوجرام لدرجة حرارة عالية ٢٠٠ْم/٤٥ دقيقة أو الرش بأحماض أو قواعد قوية متبوعة بالتسخين وهو ما يؤدي إلي حدوث تغير في التركيب الكيميائي لجزيئاتها والذي يؤدي بدوره إلي إمكانية تتبع آثار ضئيلة منها مثل الروتينون والوارفارين والكومافوس والكارباريل (وفي حالة مركب الكارباريل :السيفين فإن رش الكروماتوجرام بأيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم الكحولية ٠.١ عياري يؤدي إلي إنفراد أنيون ألفا نافثول الفلوروسنسي) .

كذلك فمعاملة كروماتوجرام مركب الكابتان بعد تطويره علي ألواح السيليكا جيل برشه بنترات الفضة ثم بمحلول مائي من كلورات الصوديوم والتسخين علي درجة ١٠٠ْم/٤٥ دقيقة أدي لتتبعه بكميات ضئيلة .

وفي بعض الحالات الأخري يتم معاملة السموم من عائلة الفوسفوثيوات (Phosphothioate) بالبرومين فتتأكسد ذرة الكبريت بجزيئات السم ويتحول إلي مشابه كبريتي أكثر قدرة علي الإنبعاث الفلوروسنسي كما بحالة الدايميثويت وكذلك المالاثيون التابع لعائلة مشتقات حمض الداي فوسفوثيويك ،كذلك نجحت أيضا مع بعض أفراد مجموعة سموم الترايأزينات المحتوية علي الكبريت .

تفاعلات الإشتقاق (Derivatization reactions) :

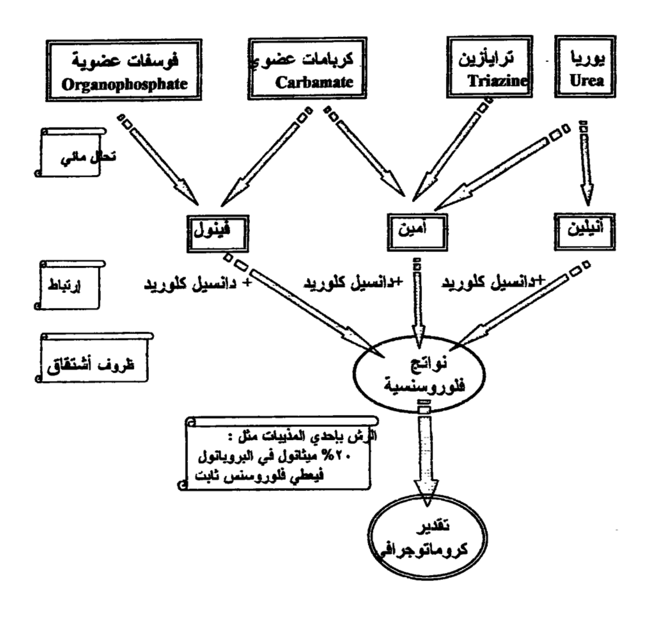
تعد تفاعلات تكوين مشتقات لبعض السموم أحدي الإتجاهات لطرق التحليل السريعة وذات درجة عالية من الحساسية لتتبع وتقدير بعض السموم خاصة عالية القطبية منها كالسموم الفوسفورية العضوية والكرباماتية العضوية والترايأزينات واليوريا والتي يصعب تحليلها بواسطة الكروماتوجرافي الغازي نظراً لقلة ثباتها الحراري وإنخفاض بعض الكاشفات (Detectors) لها .

وتعتمد هذه التفاعلات علي عملية إشتقاق بعض السموم أو نواتج تحللها المائي مع بعض الجواهر الكشافة بغرض الحصـــول علـــي مشـــتقات لـــها فلوروسنس أو لون معين يمكن تقديره وقد يحـــدث إرتبـــاط بيـــن جزيئـــات المركب مع جزيئات الجوهر الكشاف علي درجـــات حـــرارة أو حموضـــة معينة.

ومن الأهمية بكان هنا الأخذ في الإعتبار زمن التحليل المائي القلـــوي أو الحامضي والمتوقف علي طبيعة التركيب الكيميائي للمركب .

وفيما يلي أهم التفاعلات التي تتضمن تكوين لون أو مشتق فلوروسنســـي كإختبار تأكيدي يعتد به :

- تفاعل كلوريد الدانسيل (Dancyl chloride : 4-dimethyl amino naphthalene-1-sulfonyl chloride) مع نواتج التحلل القلوي لبعض الســـموم الفســـفورية العضوية والكرباماتية العضويـــةوالترايأزينات واليوريـــا والهيدروكســـي بيفينولات والشكل التالي رقم (٣-١٩) يوضح كيفيـــة أو آليـــة تكويـــن مشتقات الدانسيل



شكل رقم (٣-١٩) : آلية تكوين مشتقات الدانسيل

ومثال أخر هو تفاعل مركـــب ٤-كلــورو-٧-نيتروبــنزو-٣،١،٢-أوكساديازول (4-chloro-2,1,3-Oxadiazole : NBD-Cl) مـــع الأمينـــات الأوليـــة والثانوية وإعطاء مشتقات فلوروسنسية عالية الحساسية وهي أكثر دقـــة مـــن مركب الدانسيل كلوريد ويجب الأخذ في الإعتبار أن هذا المركـــب لايعطـــي مشتقات فلوروسنسية مع الأمينات الآروماتية أو الفينولية حيث يستخدم هـــذا الجوهر للتأكد من النتائج المتحصل عليها من طريقة الدانســـلة خاصـــة مـــع السموم الكرباماتية والتي قد تصل درجة حساسية التقدير إلي النانوجرام مـــع إمكانية الملاحظة المرئية للأشعة الفوق بنفسيجية .

وهناك عدة جواهر يمكن إستخدامها لإعطاء مشتقات فلوروسنسية مثل :

- ٢-داي فينيل أسيتيل ٣،١-إندانيـــون -١-هـــدرازوم (2-diphenyl 1,2-Indanion-1-hydrazom)
- ٢-هيدروكســـي-٥-ميثوكســـي بـــنزين هيدرازيـــــن (2-hydroxy-5-methoxybenzene hydrazid) .
- أوكسي فينيلين داي أمين(O-phnylene diamine) .
- أوكسي فيثالدهيد (O-phcthaldchydc) .
- دايميتون للمركبات المحتوية علي مجموعة كيتو أو ألدهيد (كربونيل).
- يستخدم جوهر ماليميد (Maleimide) مع مشتقات الفينول .
- وهناك جواهر أخري أمينية مثل :

*٣،٢-نفثالين داي ألدهيد

*سلفو إندونيل كلوريد

*فلورسكانين

الباب الرابع

الطرق الاسبكتروفوتومترية

١-الإنبعاث (الطيف) الكهرومغناطيسي (Electromagnetic Spectrum) :

تعتمد الدراسة الكيميائية للأنظمة الحية وغير الحية على فهم التركيب الدقيق للعناصر المكونة لها كوحدات بنائية كيميائية صغيرة متماثلة ومتساوية في الشحنة حيث لها نفس الرقم الذرى بغض النظر عن الإختلاف في رقم الكتلة وعلاقة ذلك بالخواص الطبيعة والكيميائية.

حيث ينتشر بالطبيعة تسعون عنصرا :

- أكثر هذه العناصر انتشارا بالأنظمة الحية هي :
  الهيدروجين (٦,٣%)
  الأكسجين (٢٥,٥%)
  الكربون (٩,٥%)
  النيتروجين (١,٤٥%)
- وبالأنظمة الغير حية هي :
  الأكسجين (٤٧%)
  السيليكون (٢٨%)
  الألومنيوم (٧,٩%)
  الحديد (٤,٥%)

سواء أكانت مرتبطة مع نفس الذرات أو مع ذرات عناصر أخرى مكونة ملايين الجزئيات كوحدات كيميائية بنائية أكبر.

و يتكون العنصر من دقائق تعرف بالذرات (Atoms) والتي بدورها تتكون من دقائق أصغر وهى :

١-النواة (Nucleus):

وهى مركز ذرة العنصر وتحتوى على الشحنة الموجبة وحجمها صغير جدا ($١٠^{-١٣}$ سم) إذا ما قورنت بقطر الذرة كله ($١٠^{-٨}$ سم) كما تحتوى

على البروتونات والنيوترونات والبوزيترونات والميزونات متوزعة بداخلــها بصورة تتغلب بواسطتها على قوى التنافرين هذه الشحنات الموجبة.

٢-الإليكترونات (Electrons) :

جسيمات سالبة تتوزع في مدارات (مستويات طاقة) دائرية مغلقة حــول النواة ولكل منها مستوى طاقة يسمى برقم الكوانتــم الرئيســي (Principle quantum : n) ويأخذ القيم أو الرموز التالية 1:k ، 2:L ، 3:M ، 4:N ، 5: O ، 6:P من الداخل إلى الخارج حيث أن طاقة الإليكترون بكــل مســتوى ثابتة .، شكل رقم (٤-١) .

وعند انتقال الإلكترونات من مستوى طاقة داخلي لاخر خــارجي بعــد امتصاصه كمية من الطاقة مساوية للفرق في طاقة المستويين أو حين ينتقــل مستوى طاقة خارجي لمستوى داخلي يفقدها في صورة إنبعــاث (Emission) في صورة أشعة كهر ومغناطيسية ذو تردد معين .

أما من حيث التوزيع الإليكتروني فنجد أن الإليكترون يشغل أولا المــدار الأقل طاقة الشاغر فيشغل المدار (1 S) قبل المدار (2 S) ويشغل المــــدار (2S) قبل (2 P) وهكذا كما لا يشغل أي مدار بأكثر من إلكترونين لكل منها رقــم كوانتم مغزلي مخالف للأخر . وعند شغله مدارات متساوية في الطاقــة ($2P_z$ ، $2P_y$ ، $2P_x$) فأنه يميل لتوزيع نفسه بشـــكل مفــرد قبــل حــدوث الأزدواج الإلكتروني وهو ما يعزى لقوى التنافر بين الإليكترونين الموجوديـــن وفي النهاية نجد أن عدد الإلكترونات المساوي لعدد الشحنة الموجبة بالنواة يــزداد بمقدار الواحد من عنصر لأخر ويوضع في مكانه الصحيح حســب القواعــد السابقة .

وحركة الإليكترون بالمدار لا تعالج على أنها جسيم متحرك بل كموجــة يعبر عنها بدالة موجيه ذات طول موجي وتردد معين ومن هنا يمكن دراســة خصائصه المختلفة (طاقته) فبجانب وجود كتله له كجسيم وشحنة وحجم إلا أن له خصائص موجية يحدث لها حيود عند سقوطها علــى بللــورة وعليــه يمكن القول بان حركته ترتبط بدالة موجيه يتوقف طولها الموجى على كتلتــه وسرعته حيث :

الطول الموجى (λ) = ثابت بلانك (h) ÷ كتلته (m) . سرعته (V)

حيث (m v) تسمى بكمية الحركة أو العزم .
ويمكن تقدير سرعة وكمية الحركة والوضع لجسم متحرك بصورة مطلقة في أي وقت وهو ما يعبر عنه بقاعدة عدم التأكد (Un-certainty Principle) ولهذا يعبر عن مقدار عدم التأكد في تحديد مكانه (Δx) حيث :

(Δx) .(mv) . التغير في كمية الحركة = ثابت بلانك (h) ÷ 2 π

درجة عدم التأكد في تقدير للطاقة(EΔ)=Δ t (درجة عدم التأكد في تقدير الزمن)= 2 π/h

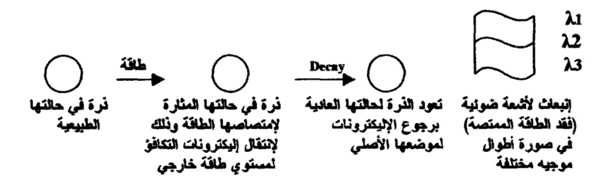
وكلما زادت درجة التأكد في تقدير كمية الحركة زادت قيمة عدم التأكد في تقدير المكان لجسيم والعكس صحيح لهذا وضع شرودنجر معادلة تصف حركة الإليكترونيات كموجة مستقرة في الذرة معبرا عنها بالدالة الموجبة (ψ) وتلاحظ علاقة قوية بين موضع العنصر بالجدول الدوري وطاقة التأين اللازمة لإزالة إلكترون من ذرة منفردة في حالتها الغازية أي أن الفرق بين طاقة مستوى تكافؤ الإلكتروني وطاقة المستوى الذي يكون قيمة رقم الكوانتم مالا نهاية حيث تزداد طاقة التأين بزيادة العدد الذرى وتقل بزيادة قيمة الكوانتم(n) لزيادة الحجم الذرى وعزل إليكترونات التكافؤ عن النواة لذا تبدأ الإزالة بالإليكترونات الموجودة في مدار التكافؤ الخارجي أولا لقلة طاقة تأينها وهو ما يشاهد تحت الظروف العادية فتتكون الأيونات الموجبة . ويلاحظ أن إليكترونات التكافؤ هى التي تشترك في التفاعلات الكيميائية لبعدها عن النواة وطاقها المنخفضة .

أما طاقة التآلف (الميل) الإليكتروني(E_A) فهى كمية الطاقة المنفردة عن إضافة إليكترون لغلاف التكافؤ ويلاحظ أن العناصر التى لها طاقة تأين كبيرة يكون لها ميل إليكترونى كبير و بالتالى تزداد قوتها المؤكدة .

ويلاحظ أن الحجم الذرى الفراغ الذي تشغله الذرة يتغير بتغير الشحنة النووية (فقد أو اكتساب إلكترونات تبعا لحالته الكيماوية).

وترتبط طرف التحليل الطيفى بالإنتقالات الإليكترونية (Electron transition) بين مستويات الطاقة فعندما تمتص ذرة عنصر ما في حالتها المنفردة (Ground state : GS) كمية من الطاقة الإشعاعية (Radiant energy) أو الكهربية (Electrical energy) أو الحرارية (Thermal energy) تنتقل الإلكترونات

الموجودة بمستوى الطاقة الخارجي لمستوى طاقة أعلى فتصبح الذرة مثـــارة وغير مستقرة (Exited) بتوزيعها الإليكتروني الجديد ولكن سرعان مـــا تعود لحالها الأصلية (الطبيعية) مرة أخرى بفقد طاقتها الممتصـــــــــة(Absorbed energy) في صورة طاقة إشعاعية ضوئية ورجـــوع إليكتروناتـــها المثـــارة لموضعها الأصلي كما موضح بالشكل التالي :



<u>شكل رقم (٤-١):</u> يوضح عملية امتصاص وانباث الطاقة بالذرات المثارة

حيث يرتبط الطول الموجي للأشعة الممتصة والمنبعثة بعملية الإنتقـــال الإليكتروني لذرة العنصر وحيث أن لكل عنصر تركيبة الإليكتروني الخـــاص والمميز له فإن الطول الموجي للأشعة المنبعثة والتي يمكـــن تســـجيلها فـــي صورة خطوط (lines) أو أشرطة : حزم (bands) إنبعاثية أو أمتصاصية تظهر في الطيف الكهرو مغناطسى تعد كمؤشر لوجود عنصر ما ، جدول رقم (٤-١) حيث يعد الفرق بين عمليتى الامتصاص والإنبعاث هو فقدان الإليكـــترون لفاعلية فحركته من مستواه الأصلي (E_o) لمستوى طاقة أعلى (E) يتطلـــب إضافة كمية من الطاقة (امتصاص) تساوى فرق الطاقة بين المستوين (E_o . E) والعكس ما يحدث في الإنبعاث ويكون فرق الطاقة فىالمستوين في حـــالات الإنتقالات الإليكترونية بالذرة أكبر من مثيلة في حالة الإهتزاز(Vibration) أو الدوران (Rotation) للجزيئى وهى تختلف من جزيئي عنصر لأخر ومن هنـــا يمكن تعريف العنصر : تحليل نوعى أو الوصفـــي (Qualitative analysis) بدلالة توصفها في الطيف الكهرومغناطسيى والطيف الناتج عن الجزئيات

يكون بصورة شريط عريض أو مجموعة خطوط متقاربة (Band spectra)
ناتجة عن مجموعة أنتقالات إلكترونية وقياس الشدة الضوئية (Intensity)
لهذه الخطوط أو الأشرطة ومقارنتها بمحلول قياسي لنفس العنصر يمكن
تقديرها كميا.

وتخضع عمليتى امتصاص أو انبعاث الأشعة الضوئية لقوانين الكم حيث
تتميز ذرة عنصر ما بمستويات طاقة محددة ومن هنا يمكن الربط بين الطاقة
(E) والتردد (υ) وطول الموجة (λ) من القانون :

طاقة الفوتون الممتصة أو المنبعثة (E) أرج =

ثابت بلانك (h) . التردد بالهرتز(υ) = h υ

= ٦,٦٢٦ × ١٠ $^{-٢٧}$ ايرج / ث

$$E = h \cdot C / \lambda = h \cdot C \cdot \upsilon$$

لأن سرعة الضوء (C) = V.λ = 3 × ١٠ ^{١٠} سم / ث

وامتصاص الطاقة بالجزئيات يتم عندما تكون :

طاقة الفوتون (E) = طاقة الإنتقالات الإليكترونية بالذرة (الجزئي)

فطاقة الجزيئ بالحالة المثارة(*M) = طاقة الفوتون (h v = E) +طاقة
الجزئي في حالته العادية (M)

ولهذا يلاحظ الصغر الكبير لفترة حياة الجزيئ المثار(١٠ $^{-٩}$ - ١٠ $^{-٨}$
ثانية) لذا فتركيزة في أي لحظة يمكن إهماله . ومن هنا يمكن التعريف
النوعى أو الوصفي (Qualitative analysis) بدلالة موضعها بالطيف كما يمكن
التعريف الكمي (Quantitative analysis) بدلالة قياس شدة كثافة الخطوط أو
الأشرطة ومقارنتها بمحلول قياس لنفس الجزيئ.

جدول رقم (٤-١) : يوضح مناطق الطيف (الانبعاث) الكهرو مغناطيسي

منطقة الطيف	نوع الامتصاص (الإنبعاث)	الطـــول الموجي (λ)	التردد(ν= c/λ)	العـــدد الموجي Cm-1
أشعة جاما Gamma ray	تحول نووى (Nuclear Transformation)	0.001-0.1		
أشعة سينية X - ray	فعل متبادل بين الأنوية (Nuclear Interaction) انتقال إليكتروني بالمدارات الداخلية (Outer Elect. Shell Transition)	0.1-1000	10^{20} - 10^{16}	
أشعة فوق بنفسجية (Ultra Violet Light:UVL) ▪ بعيدة (Far) ▪ قريبة (Near)	أنتقال إلكتروني بالمدارات الخارجة (Outer Elect. Shell Transition) أنتقال إلكتروني بالمدارات الخارجة (Outer Elect. Shell Transition)	100 nm – 200 nm 200 nm- 400 nm	10^{16} –10^{15}	
الموجات المرئية (Vissible Light)	أنتقال إلكتروني بالمدارات الخارجية	400 nm – 750 nm	$7.5.10^{14}$ 4.10^{14}	25000 13000
أشعة تحت حمراء ▪ قريبة (Near) ▪ متوسطة (Mid) ▪ بعيدة (Far)	اهتزاز جزيئية (Molecular Vibration) أهتزازت جزيئية (Molecular Vibration) دوران جزيئية (Molecular Rotation)	0.75-2.5 2.5 - 50 50 -100	4.10^{14} – $1.2.10^{14}$ $1.2.10^{14}$ - 6.10^{12} 6.10^{12} - 10	13000 4000 4000 200 200 - 10
موجات ميكرونية (Microwave)	حركة إلكترونيات غير مزدوجة الانوية (رنين إلكتروني مغناطيسي) Electromagnetic Resonance EMR (Molecular rotation) دوران جزئيي	0.1cm 100 cm	10^{11}-10^{6}	10- 0.1
موجات الراديو (Radio Waves)	انتقال الاتجاه المغزلى : رنين نووي مغناطيسي (Nuclear magnetic Resonance) (NMR)	1.0 m 1000m	10^{8} –10^{6}	

1m = 10 dm
= 100 cm
= 1000 mm
= 1000 000 µ m = 10^6 µ m (micrometer : micron)
= 1000 000 000 nm = 10^9 nm (nanometer : mililimicron)
= 1000 000 000 000 pm = 10^{12} pm (pico meter)
= 1000 000 000 000 000 fm = 10^{15}
= 1000 000 000 000 000 000 am = 10^{18}

cm = 10 mm = 10^1
= 10000 µ m = 10^4
= 1000 000 0 nm = 10^7
= 1000 000 00 A^0 = 10^8 (Angestrom)
= 1000 000 000 0 Pm = 10^{10}

١-١-طيف الإمتصاص في منطقة الأشعة المرئية:
التحليل اللوني (Calorimetric) أو الفوتومتري(photometry)

وهو قياس قدرة النظم الكيميائية الملونـــــة (Coloured chemical system) على امتصاص الضوء منطقة الضوء المرئى (Visible light) في مدى طـــول موجي ٤٠٠-٧٥٠ نانوميتر وهو قياس عالى الحساسية خاصة عند أقصـــى طرفى المدى السابق . ويعتمد تكوين اللون فى النظم الكيميائية على تفـــاعل مركز نشط (Active site) يحتوى على مجموعة دالـة (Functional group) مـــع جوهر كشاف (Reagent) أو صبغة (Dye) أو دليل (Indicator) لإعطاء تفـــاعل كامل ووحيد ذو لون مميز وثابت تزداد شدة كثافته اللونية فى علاقة خطيـــة مع الزيادة المضطردة فى تركيز المادة كمـــا يجـب وأن يعطـــى التفـــاعل بالطريقة المستخدمة نفـــس النتـــائج عنـــد أعـــادة تكـــراره مـــرة أخـــرى (Reproducibility) تحت نفس الظروف.

ولقد أشار Bouger بان شدة الكثافة الضوئية لشعاع ضوئي ســاقط أو نافذ (P : I) يتناسب مع تركيز المحلول المار خلاله الشعاع الضوئي وســـمك المسار المار فعندما يسقط الشعاع الضوئي (Io) على جزيئـــات مـــادة فـــي محلول ما فإن جزء منه ينفذ (transmitted : I_t) وجزء يمتص بجزئيات المـــادة (Absorbed : I_A) وجزء منه ينعكس (reflected : I_r) وجزء يتعثر(Scattering : I_s)

وجزء يمتص بجدران خلية العينة (Ia) . وعلية فإن شدة الشـــــعاع الســاقط الكثافة الضوئية (Io) يمكن حسابها من :

$$Io = I_T + I_A + I_R + I_S + I_s = I_T + I_A$$

حيث يهمل كلا من الجزء المنعكس والمتبعثر لصغرهما وعلية تكون :

النسبة المئوية للنفاذ
=شدة الكثافة الضوئية للشعاع الضوئي النافذ / شدة الكثافة الضوئية للشعاع الضوئي النافذ
$100 \times Io / I_T = (T)\%$=

النسبة المئويةللإمتصاص =
=شدة الكثافة الضوئية للشعاع الضوئي الممتص / شدة الكثافة الضوئية للشعاع الضوئي الساقط
$100 \times Io / I_A = (A)\%$=

ولقد أشار Lambert بأنه عندما يسقط شعاع ضوئي (Io) أحادى اللـــــون : ذو طول موجي معين (monochromatic) خلال محلول مادة ما فإن التغير في شدته الضوئية ينخفض بعلاقة آسية بزيادة سمك مسار الوسط المار فيـــه(b) مع ثبات التركيز.

فبفرض أن النقص فى شدة الكثافة الضوئية خلال الوسط هى dI وبـــالأخذ في الاعتبار امتصاص جزء من شدته الضوئية خلال سمك الوسط المار فيـــه (b) : إذن شدة الكثافة الضوئية للشعاع عند b=صفر هي Io وعندها b =X هي I

$$\ln Io - \ln I = \ln Io / I = A = Kb$$

حيث : K هو ثابت الامتصاصية أو معامل الانخفـــاض (Extinction coefficient) ويتوقف على :

أ - الطول الموجي (λ) المقاس عليه

ب - تركيز الوسط المادي المقاس (C)

ج- طبيعة الوسط المار فيه

وأشار Beir إلى أنة عندما يسقط شعاع ضوئي أحـــادى(monochromator) ذو طول موجي معين خلال محلول مادة ما فيحدث تغير فى شدة كثافته الضوئيـة

فتنخفض بعلاقة أسية بزيادة تركيز الوسط المار فيه (c) مـــع ثبـــات طـــول مسار الضوء (b) وعلية فأن:

$$\ln Io - \ln I = \ln\ Io/I = A = Kc$$

حيث (K) هو ثابت الامتصاصية أو معامل الانخفاض ويتوقف على

أ ـ الطول الموجي (λ) المقاس علية .

ب_ طول مسار الضوء المار (b) .

ج ـ طبيعة الوسط المار فية .

ويجمع القانونين معا

$$\ln Io - \ln I = \ln\ Io/I = K.b.c.$$

$$A = a.b.c = \varepsilon .b.c$$

حيث : (a) ثابت الامتصاصية النوعية وتميز لتر جم $^{-1}$ سم $^{-1}$

(ε) ثابت الامتصاصية المولارى وتميز مول $^{-1}$ سم $^{-1}$

= ثابت الامتصاصية النوعية × الوزن الجزئي.

ويقال ثابت الامتصاصية المولارى (ε) :

- قوى عندما يكون فى حدود ١٠٠٠٠
- ومتوسط عندما يكون فى حدود ٥٠٠٠
- وضعيف عندما يكون فى حدود ١٠٠٠

ومعامل الامتصاص المولارى إحدى دلالات الحاسبة (Sensitivity index) للحكم على النتائج المتحصل عليها ويحصل عليه من قانون بيير أو يحسب بدقة بأخذ معدلات الامتصاص المولارى لكل نقطة على المنحنى ويطبق عليها .

كذلك تستخدم دلالة ساندل (Sandel) وهى عدد الميكروجرامات من المركب المتحولة لناتج ملون فى محلول بمقطع ا سم وتعطى امتصاص ٠,٠٠١ وحدة امتصاص وتساوى الوزن الجزئي ÷ (ε)

ولا يمكن تطبيق قانون بيير مباشرة فى عملية التحليل اللوني حيث أنــه لا يمكن تقدير كلا من I ، Io بدقة ويرجع ذلك لأن جزء من الأشعة الســاقطة على العينة يحدث لها انعكاس على جدر الخلية كما يحدث تفريــق أو تشــتت للأشعة.

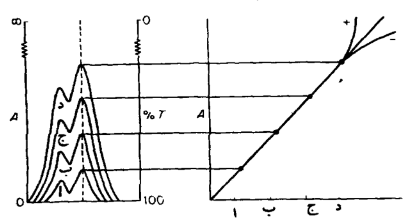
ولتصحيح هذا الخطأ فإن القياس يتم بمقارنة الأشعة الخارجة مــن العينــة من المذيب أو المرجع بالأجهزة وحيدة الحزمة (Single beam) أما بالأجــهزة ذات الحزمتين (Double beam) فيتم التصحيح بمقارنة طاقة الأشعة الخارجــة من العينة مع الأشعة الخارجة من المذيـــب وعليــة يمكــن التعبــير عــن الامتصاص (A) بالمعادلة :

(A) = لو I (الشعاع النافذ) / Io (الشعاع الساقط)

وتعتبر العلاقة الخطية بين التركيز والامتصاص فى قانون بيير محدودة في مدى معين ويحدث الإنحراف في شكل هذه العلاقة بمجموعة من العوامل:

١-الإنحراف الناتج عن زيادة التركيز:

حيث يحدث انحراف عن العلاقة الخطيــة فــي التركــيزات المرتفعــة بالجانب الموجب أو السالب حيث يمكن تطبيق قانون بيــير علــى المحــاليل المنخفضة التركيز للمركبات بنجاح ودقة حيث أن قانون بيير محدود لمنطقــة معينة من التركيز فالجزئيات بالمحاليل المركزة تكون متقاربة جــدا لدرجــة تأثيرها فى توزيع الشحنات على الجزئيات المجاورة وهذا التأثير يؤثر بــدورة على الامتصاص ، شكل رقم (٤-٢) .



شكل رقم (٤-٢) :علاقة الطيف مع التركيز حيث تترجم البيانات الطيفية إلي علاقة قانون بيير

٢-الانحراف الكيميائي :

حيث يمكن أن يحدث انحراف عن قانون بيير نتيجة حدوث تفكك (Dissociation) أو تجمع (Association) للجزئيات فى محلول عينة أو يحدث نتيجة تفاعل جزئيات المادة مع جزئيات المذيب وهو ما يحدث مع اتزان البيكرومات في محاليها المائية :

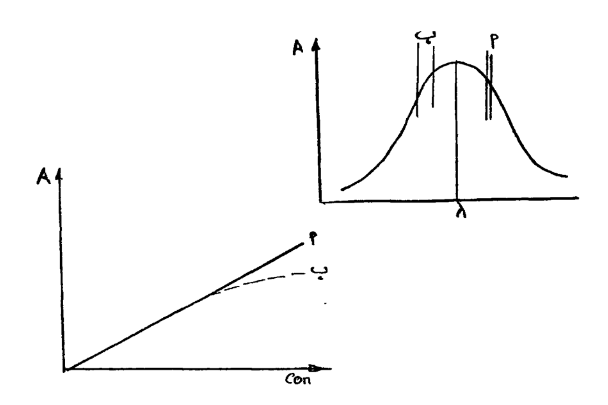
$$Cr_2O^{2-}_7 \quad + H_2O \longrightarrow 2\,HCrO^-_4 \longrightarrow 2H^+ + 2CrO^{2-}_4$$

وتركيز هذه الأيونات يتوقف على تركيزها الأولى حيث يكون معامل الامتصاص المولارى للبيكرومات عند طول موجي معين مختلف عن نوع الأيونات الأخرى . ونظرا لأن معامل الامتصاص الكلى للمحلول يتوقف على تركيز هذه الأيونات والتي تتغير نسبتها بالتخفيف فإن هذا ما يؤدى للانحراف عن قانون بيير.

٣-الانحراف الناتج عن الجهاز :

يبني الإستناج الرياضي لقانون بيير على افتراض استخدام أشعة وحيدة الطول الموجي إلا أن معظم الأجهزة تعمل على مدى ضيق معين من الأطوال الموجيه والذي يعتمد على نوع وحدة فصل الأشعة بالجهاز .

فأجهزة الفوتومترى تستخدم بها المرشحات وهنا يكون عرض الحزمة الضوئية كبير فتزداد عدد الأطوال الموجية المستخدمة في التقدير مما يؤدى للانحراف عن قانون بيير حيث يكون الانحراف صغير عند أستخدم حزمة تحتوى على أقل عدد ممكن من الأطوال الموجيه وعلية فعند إدخال منشور (prism) أو محزوز (Grating) بالتصميم فيقوم بفصل الأطوال الموجية عن بعضها ثم تؤخذ حزمة يكون عدد الأطوال الموجية فيها أقل ما يمكن فيقل معها قيمة الأنحراف الذي يظهر نتيجة تغير في قيمة معامل الانكسار المولارى خلال الحزمة :



<u>شكل رقم (٤-٣)</u> : تأثير مدى نطاق الأطوال الموجية على الانحراف
حزمة أ : انحرافها صغير لأن قيمة معامل الامتصاص المولى لا يتغير كثيرا خلال مدى الحزمة الصغير .
حزمة ب :انحرافها كبير لأن قيمة معامل الامتصاص المولى يتغير كثيرا خلال مدى الحزمة الكبير .

٤-تجهيز العنيه واختيار المذيب المناسب :

يجرى تحليل محلول العينة بمذيب مناسب كما يجب استخدام نفس المذيب بالعينة المرجع . ويشترط فى المذيب المستخدم :

- ألا يمتص الأشعة في منطقة الطول الموجي المقاس فيه العينة.
- ذوبان المادة المراد تقدير تركيزها جيدا وبتجانس .
- بالعينات المحتوية على إنزيم يستخدم محلول منظم كمذيب بحيث لا يمتص الأشعة على الطول الموجي المستخدم في التقدير.

ويجب و ألا تحتوى العينة المجهزة على شوائب تتفاعل مع جوهر اللون فقد تنتج لون يمتص بجانب لون العينة الأصلي عند نفس الطول الموجي لذا يلزم التنقية الجيدة للمركب كما يجب وأن تكون العينة ذائبة تماما

ومتجانسة كذلك يجب وأن يكون المذيب المستخدم خالي من الشوائب التي قد تمتص الأطوال الموجية المقاس عليها .

٥-الحرارة (Temperature) :

يؤدى التغير في درجة الحرارة ± ٥°م لإزاحة التوازن الأيوني (Ionic Equilibrium) علاوة عن أن الزيارة في درجة الحرارة ينتج عنها تأثير على الأيونات بالمحلول فمثلا يتغير لون محلول كلوريد الحديديك من البني المحمر إلى البرتقال المحمر بالتسخين .

٦-تأثير عرض الشق (slit) على الامتصاص :

فكلما زاد عرض الشق كلما زاد مدى الأطوال الموجية النافذة للعينة وكلما زاد القصور وهنا تكون العلاقة غير خطية والعكس صحيح حيث يزداد قيمة الامتصاص (علاقة خطية) .

تصميم أجهزة القياس اللوني (Photometry Instrumental Design) :

غالبا ما تختلف الوحدات المكونة للجهاز بعض الشيء في جزء من وحدة أو عدة أجزاء في وحدة أو أكثر ولكن تظل الفكرة الأساسية التي يبنى عليها تصميم الجهاز واحدة وثابتة وهى :

١-مصدر الضوء : مصدر الأشعة (light : radiation source) :

يجب وأن تتميز الأشعة الضوئية الناتجة من المصدر بما يلى :

- أن تكون الأشعة ثابتة من حيث كثافتها الضوئية (Uniforn Intensity) خلال مدة القياس وفي نفس الوقت مستمرة (Continuous) .
- أن تكون الأشعة محتوية على كل الأطوال الموجية للمدى المستخدم في التقدير بالجهاز .
- ومن هنا وجب توصيل الجهاز على مصدر تيار على درجة عالية من الثبات أو يتم توصيل الجهاز بمثبت تيار كهربى (Stabilizer) ليعطى أشعة ثابتة ومستقرة ومستمرة ومنتظمة في شدة كثافتها الضوئية .

ومن أمثلة اللمبات المستخدمة كمصدر ضوئى :

- لمبة التنجستن (Tungsten incandescent) والتي تعمل على درجة حـرارة ٢٨٦٠-٢٩٠٠ كالفن وتنتج الأشعة من توهج الفتيـل (Filament) نتيجـة ذبذبـة ذرات مادتـه وبطـول موجـي يـتروح بيـن ٣٢٠-٢٥٠٠ نانوميتر .ويلاحظ احتوائها على جزء كبير من الأشـعة التحـت حمـراء القريبة لذا يوضع مرشح ضوئى يمتص الحـرارة (Heat absorbing filter) بين المصدر الضوئي والعينة فهي تماثل الإشعاع النـاتج مـن الجسـم الأسـود (Black body radiation) حيـث مـدى الـترددات للموجـات الكهرومغناطيسية الناتجة من جسم يمتص كل الأشعة السـاقطة عليـه حيث يكون توزيع الطاقة على الترددات المختلفة لها ، فقيمة أقصى كثافة ضوئية عند تردد معين يتوقف فقط على درجة الحرارة وليس على مـادة الجسم حيث تصبح صفر عند الترددات المرتفعة أو المنخفضة جدا .

٢–وحدة التحكم في الأطوال الموجية (Wave length control) :

حيث تقوم بتوجيه حزمة من الأشعة الضوئية تحتوى على مدى معين من الأطوال الموجية للعينة المراد قياس تركيزها حيث تقوم بفصل مدى معين من الأطوال الموجية عن باقي الأطوال الموجية للأشعة الناتجة من مصدر الإشعاع والمحتوية على جميع الأطوال الموجية وذلك باستخدام مرشحات ضوئية (Filters) تسمح بمرور مدى معين فقط ولاتسمح (تمتص) بمرور باقي الأطوال الموجية الأخرى وهى :

١–فلتر لونه بنفسجي ذو طول موجي يتدرج بين ٤٠٠–٤٣٥ نانوميتر يسمح بمرور هذا المدى ولا يسمح بمرور باقي الأطوال الموجية (اللون المتمم أخضر وأصفر) .

٢–فلتر لونه أزرق وذو طول موجي يتدرج بين ٤٣٥–٤٨٠ نانوميتر يسمح بمرور هذا المدى ولا يسمح بمرور باقي الأطوال الموجية (اللون المتمم أصفر) .

٣–فلتر لونه أزرق مخضر وذو طول موجي يتدرج بين ٤٨٠–٤٩٠ نانوميتر يسمح بمرور هذا المدى ولا يسمح بمرور باقي الأطوال الموجية (اللون المتمم برتقالي) .

٤–فلتر لونه أخضر مزرق وذو طول موجي يتدرج بين ٤٩٠–٥٠٠نانومتر يسمح بمرور هذا المدى ولا يسمح بمرور باقي الأطوال الموجية (اللون المتمم أحمر) .

٥–فلتر لونه أخضر وذو طول موجي يتدرج بين ٥٠٠–٥٦٠ نانوميتر يسمح بمرور هذا المدى ولا يسمح بمرور باقي الأطوال الموجية (اللون المتمم أرجواني).

٦–فلتر لونه أخضر مصفر وذو طول موجي يتدرج بين ٥٦٠–٥٨٠ نانوميتر يسمح بمرور هذا المدى ولا يسمح بمرور باقي الأطوال الموجية (اللون المتمم بنفسجي) .

٧–فلتر لونه اصفر وذو طول موجي يتدرج بين ٥٨٠–٥٩٥ نانوميتر يسمح بمرور هذا المدى ولا يسمح بمرور باقي الأطوال الموجية (اللون المتمم أزرق).

٨- فلتر لونه برتقالي وذو طول موجي يتدرج بين ٥٩٥-٦١٠ نانوميتر يسمح بمرور هذا المدى ولا يسمح بمرور باقي الأطوال الموجية (اللون المتمم أزرق مخضر).

٩-فلتر لونه أحمر وذو طول موجي يتدرج بين ٦١٠-٧٥٠ نانوميتر يسمح بمرور هذا المدى ولا يسمح بمرور باقي الأطوال الموجية (اللون المتمم أخضر مزرق).

٣-وحدة وضع العينة (Sample Cuvett : Cups) :

خلايا مصنوعة من مواد شفافة لا تمتص الأشعة في المدى المصمم علية القياس بالجهاز أي من ٤٠٠- ٧٥٠ نانوميتر كالزجاج والبيركس ويجب أن يكون شكلها مناسب لتقليل الفقد في الأشعة المنعكسة ولهذا فعادة ما تكون خلايا مكعبة أو بشكل متوازي مستطيلات وبعرض ا سم ويراعى توحيد أبعاد الأنابيب لاعتماد شدة الكثافة الضوئية للشعاع النافذ على سمك المسار الضوئي عبر المحلول أي علي عرضها .

٤-وحدة قياس الطاقة : الخلايا الضوئية (Detectors : Photoelectric Cell) :

وحدات كهر وضوئية (Photoelectric device) تقوم بتحويل طاقة الشعاع الضوئي الساقط عليها لاشارات كهربية (Electric signals) تستخدم لقياس التغير في طاقة الأشعة معتمدة على :

- الطول الموجي : طاقة الفوتون (Photon energy : E)
- كثافة الأشعة الساقطة على وحدة المساحة / ثانية : E / سم^{2} / ث
وكلما كان التغير على مدى كبير من الأطوال الموجية كلما كان افضل .
- استجابتها الكهربية الوحدة (K_1 = (G) حساسية الوحدة / وحدة قوى الأشعة) . P (وحدة قوى الأشعة) + K_2 (التيار الناتج عن عدم سقوط أشعة : تيار الإظلام) .
- استجابتها خطية (Linear response) سريعة وثابتة فتصل لأقصى استجابتها سريعا وتناسقية (Co ordinate) مع قوة الأشعة الساقطة .

- منخفضة الضوضاء (low noise) وذلك بخفض تيار الإظلام للصفر (dark current) لذا تزود بدائرة مكافئة (Compensating circuit)) ليتسنى تميز الإشارات الكهربية الضعيفة.
- يمكن تكبير (Amplified) الإشارات الناتجة عنها .

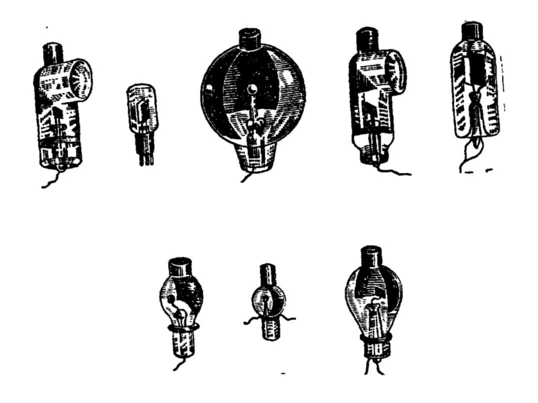
٤-١-خلية الانبعاث الضوئي:الخلية الضوئية (Photomessive : Photo cell)

تتكون من مهبط حساس للضوء بشكل نصف أسطوانة مغطى سطحها الداخلي بطبقة حساسة ضوئيا (Photo messive layers) كسبيكة البيريليوم والنحاس أو السيزيوم والانتيمون .

حيث تتوقف حساسيتها علي طبيعة السبيكة والتي ترتبط طاقة الإليكترونات المنفصلة منها بتردد الأشعة الساقطة عليها فطاقة الإلكترون المنفصل w.v.h = E وهي كمية الشغل أي دالة الشغل (Work function) اللازمة لإزالة إليكترون من الطبقة الحساسة ضوئيا وتساوى طاقة التأين وكلما انخفضت دالة الشغل كلما سهل أنفصال إليكتروناته عند أمتصاصها للأشعة الضوئية (كالمعادن القلوية ومخاليطها) حيث تزداد عدد الإليكترونات المنفصلة بزيادة شدة الأشعة الساقطة على الكاثود فيزداد فرق الجهد بين الكاثود و الأنود وعند وصولها لحالة التشبع تتدفع الإليكترونات المنفصلة من الكاثود للأنود الجامع للإلكترونات والذي يتوسط السطح الداخلي للكاثود فيصبح التيار مستقل عن الجهد ومتناسب طرديا مع شدة الأشعة ، شكل رقم (٤-٥) .

ثم تعود الإلكترونات مرة أخرى للمهبط خلال دائرة خارجية فينتج تيار كهربى يمكن تكبيره .

وعند توصيلها بدائرة كهربية يشاهد مرور تيار كهربى كبير لصغر مقامتها ويتم تشغليها بجهد ٩٠ فولت لا أكثر حتى لا يتكون تيار الإظلام بمنطقة التشبع ودون الحصول على أية استجابة إضافية . وتحفظ الخلية بغلاف محكم لحجبها عن الأشعة الكونية مع استخدام نظام تبريد للتغلب على حرارتها .

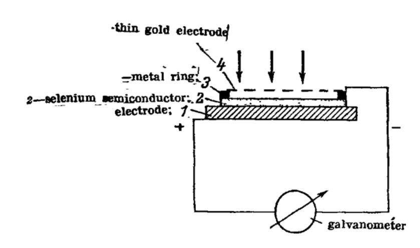


شكل رقم (٤-٥) : خلية الإنبعاث الضوئي

٤-٢-خلية الطبقة الحاجرة:الضوء فولتية (Barrier layer photocell : Photo Voltic Cell)

تتكون من إلكترود مستوى من النحاس أو الحديد مرسب عليه طبقة سيلينيوم شبة موصله (Semiconductor) أعلاها غلالة من الذهب أو الفضة تعمل كالكترود جامع للإلكترونات في المنطقة بينهما حيث تتحرك الإلكترونات من طبقة السيلينيوم بإثارتها للإلكترود الجامع متغلبة على حاجز الجهد بطاقتها المكتسبة ، شكل رقم (٤-٦) .

وعند توصلها بدائرة كهربية يشاهد مرور تيار كهربى كبير لصغر مقاوتها يقدر بالجلفانومتر أو الميكروأميترون بدائرة تكبير خاصة مع الأجهزة المزودة بمرشحات.

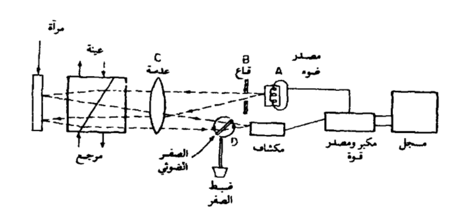


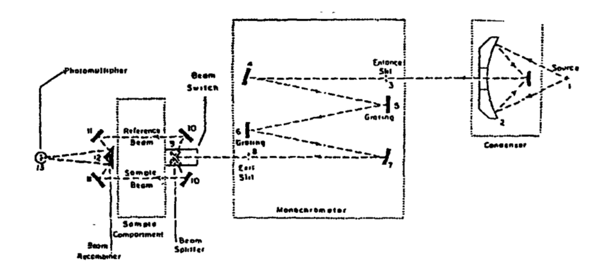
شكل رقم (٤-٦) : خلية الطبقة الحاجزة

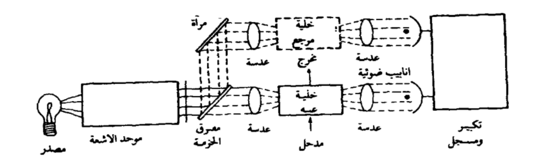
٥-وحدة التسجيل : (Recording (meter) Unite :

يتم خلالها قياس التغير في طاقة أشعة الإمرار الضوئي أو الامتصـــاص الضوئي على تتدريج لوحة الجلفانوميتر بمؤشر يتحرك علي لوحتها.

والشكل التالي (٤-٧) يوضح نموذج تخطيطي لأجهزة التحليل اللونـــي ذو خلية ضوئية واحدة وذو خليتين ضوئيتين .





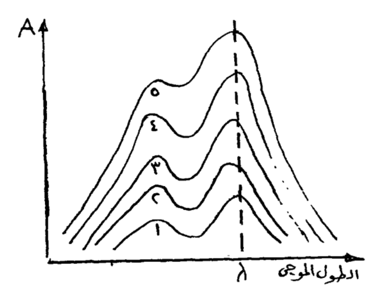


<u>شكل رقم (٤-٧)</u> : نموذج تخطيطي لأجهزة التحليل اللوني ذو خلية ضوئية واحدة وذو خليتين ضوئيتين .

المنحنى القياسي أو المعياري (Standard : Calibration Curve)

وهو منحنى يربط بين تركيزات متدرجة من المادة المراد قياس تركيز مجهول لها والامتصاص المقابل لكل تركيز ويجري تنفيذه كما يلي .

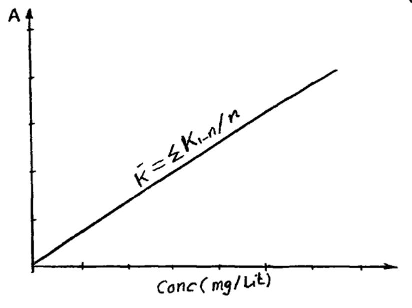
- يتم عمل عدة تركيزات متدرجة ومعلومة التركيز من المادة النقية (Active ingredient : AI) للمادة المراد قياس تركيز محاليل لها .
- يؤخذ التركيز المتوسط منها ويتم قياسه مع تغيير الطول الموجي تدريجيا بتغير المرشحات الضوئية الواحد تلو الأخر مما يؤدى بدورة لتغير متتابع في شدة الكثافة الضوئية حتى نحصل على أقصى امتصاص (Absorption Max) ويكون عنده أنسب طول موجي للقياس (λ max) كما يمكن أن يتعين ذلك من خلال رسم منحنى طول الموجي - امتصاص شكل رقم (٤-٨) .



شكل رقم (٤-٨) :تحديد أنسب طول موجي للقياس

□ بعد تعين أنسب طول موجي للقياس يتـم قـراءة الكثافـة الضوئيـة (Optical density : OD) للتركيزات المتدرجة (بثلاث مكررات على الأقل)

□ يتم توقيع قياس الكثافات الضوئية للتركيزات المستخدمة على المحـور الصادى (Y) والتركيزات المستخدمة على المحور السيني (X) فنحصـل على خط مستقيم وهو ما يعرف بالمنحنى القياسي أو المعيـاري ، شـكل رقم (٤-٩) .



شكل رقم (٤-٩): يوضح أعداد المنحني القياسي لمركب ما

□ من المنحنى وبطريقة مباشرة (Direct method) يمكن الحصول علـى تركيز أى كثافة ضوئية لعينة مجهولة التركيز من نفس المـادة . أو يتـم الحصول عليها بطريقة غير مباشرة (Indirect method) وبدقة أكبر مـن خلال قسمة قيمة الكثافة الضوئية لكل تركيز (O . D) على قيمة التركـيز الناتجة منه أي $Conc. 1 / O.D_1$ فنحصل على الثابت .K ويجرى المثـل مع باقي التركيزات فنحصل على ثابت (K_2) للتركـيز الثـاني ، (K_3) للتركيز الثالث وهكذا ثم نجمع قيمة هذه الثوابت والتي تتفاوت قيمتها تبعـا

لدرجة التركيز ثم تتقسم على عددها (n) فنحصل على ثـابت العـام K⁻

$K^- = \Sigma K_1 - n / n$

وباستخدام قيمة الثابت K⁻ يمكن ترجمة أي كثافة ضوئية لتركيز عينـة من نفس المادة التي تم عمل منحنى قياسي لها وذلك بقسـمة قيمـة الكثافـة الضوئية المقاسة على الثابت العام (K⁻) :

$O.D / K^- = Conc.$

ولتصحيح الخطأ الذي ينتج أثناء القياس حيث لابد من مقارنـه الأشـعة النافذة من العينة المرجع (المقارنة) بالعينة مجال القياس وذلك فـي حالـة الأجهزة ذات الحزمتين أما في الأجهزة ذات الحزمة الواحـدة فيتـم ضبـط الجهاز على ١٠٠% أمرار ضوئى (صفر امتصاص) فـي وجـود عينـة المقارنة وقبل قياس العينة مجال التقدير.

تخفيف العينات (Samples Dilution)

يحتاج الأمر عند قراءة الكثافة الضوئية لبعض العينـات أجـراء عمليـة تخفيف للعينة نتيجة القراءة العالية جدا للكثافة اللونية والتى قد تخـرج عـن نطاق المدى المناسب للقياس والتى تزيد من قيمة الخطأ النسبى في حالة عـدم التخفيف وفى هذه الحالة يتم التخفيف للنصف أو أعلى على حسـب قـراءة الكثافة الضوئية بالمدى المناسب للقياس (٠,٢-٠,٨) ثم تترجم لتركيز حيـث تضرب بعد ذلك في قيمة معامل التخفيف .

تقوية العينات (Sample fortification)

يستدعى الأمر أثناء القياس للكثافة الضوئية لبعض العينات أجراء عمليـة تقوية لها نتيجة لوقوعها خارج نطاق القياس (أقل من المدى٠,٢) حيـث قـد ترتفع نسبة الخطأ النسبى في هذا المدى وهنا يتم عمل تركيز معلوم من نفـس المادة وتقرأ الكثافة الضوئية له وتترجم إلى تركيز وليكن (C_f) ثم تضـاف إلية بعد ذلك العينة الضعيفة بنفس الحجم وتقرأ الكثافة الضوئية وتترجم إلـى تركيز وليكن (C_t) ثم يحسب تركيز العنية الضعيفة والتي تم تقوتها بطـرح قيمة التركيز Ct من التركيز C_f فنحصل على التركيز الضعيف للعينة بدقة .

استخدام أجهزة القياس اللوني أو الفوتومتري في التحليل الكمي للسموم والملوثات البيئية (Quantitative Analysis)

تعتبر طريقة القياس في الضوء المرئي من أكثر الطرق شيوعا حيث تعتمد على إضافة مادة مظهرة للون تتفاعل مع المركب وتعطى لون يتدرج في الكثافة تبعا للتركيز ولذلك يمكن استخدام أجهزة القياس اللوني بالامتصاص في منطقة الأشعة المرئية للتقدير الكمي لمركب أو أيون يمتص الأشعة الكهرومغناطيسية في نطاق الأطوال الموجية لهذه المنطقة حيث يتم تقدير تركيز مادة ما ذات محلول ملون أو متفاعلة مع جواهر كشافة أو صبغات أو أدلة مظهرة للون والتى يعتمد فيها شدة اللون الناتج والمقاس على تركيز المادة حيث يتم القياس على أفضل طول موجى يحدث عنده أقصى امتصاص للمادة المراد قاس تركيزها وذلك من خلال :

- تجهيز عدة محاليل قياسية من المادة القياسية عالية النقاوة متدرجة التركيز لعمل منحنى قياس .
- يتم ضبط الجهاز بتصفيرة على صفر أمرار ضوئى .
- توضح العينة المرجع (Blank) ويضبط الجهاز على ١٠٠% أمرار ضوئى (صفر امتصاص) .
- توضح العينة القياسية (Standard) المتدرجة للتركيز الأوسط ويتم تعين أنسب طول موجى للقياس والذي يعطى أعلى امتصاص (سبق الإشارة إليه) ثم تسجل قراءة الامتصاص أو النفاذية لهذه النقطة (التركيز) وكذا مع النقاط (التركيزات) الأخرى .
- يتم رسم المنحنى القياس بتوقيع قراءات النفاذية أو الامتصاص في مقابل التركيزات المتدرجة على المحور السيني (X) والحصول على الخط المستقيم (كما سبق)
- توضع العينة المجهولة التركيز على نفس الطول الموجى ويقاس لها النفاذية أو الامتصاص حيث تترجم قراءة الكثافة اللونية (للنفاذية أو الامتصاص) إلي تركيز من خلال المنحنى القياس (كما سبق) .

التحليل الكمي لمخلوط

عند قياس امتصاص مركب مخلوط مع مركب أخر ولهما طيف امتصاص كما بالمنحنى فإنه يمكن تقدير تركيز كل مركب بالمخلوط بتقدير الامتصاص للمخلوط على الطولين الموجيين الخاص لكل منها $\lambda 1$ & $\lambda 2$ حيث :

$C_2 \varepsilon_2 \lambda_1 + C_1 \varepsilon_1 \lambda_1 = A_1$ على الطول الموجى λ_1

$C_2 \varepsilon_2 \lambda_2 + C_1 \varepsilon_1 \lambda_2 = A_2$ على الطول الموجى λ_2

حيث أن الامتصاص للمركب: $\varepsilon_1 \lambda_1$ $\varepsilon_2 \lambda_1$ $\varepsilon_2 \lambda_2$ $\varepsilon_1 \lambda_2$ تقدر لكل محلول على حدة من المنحنى القياسي

وبحل المعادلتين يمكن أيجاد قيمة C_1 ، C_2

فممثلا عند تقدير مخلوط للكرومات والبرمنجنات :

- يتم أولا تحديد الطول الموجي الذى يحدث عنده أقصى امتصاص للكرومات λ_1 و للبرمنجنات λ_2.
- يتم عمل سلسلة تركيزات من كلاهما (منحنى قياسي) ثم تقاس تركيزات الكرومات على كل من λ_1 ، λ_2 ثم تقاس تركيزات البرمنجنات على λ_1 ، λ_2 .
- يتم قياس امتصاص مخلوطهما معا على الطول الموجى λ_1 ، λ_2 .
- امتصاص المخلوط عن λ_1

= امتصاص الكرومات عن λ_1 + امتصاص البرمنجنات عند λ_1.

= (ميل الكرومات × تركزها) + ميل البرمنجنات × تركيزها.

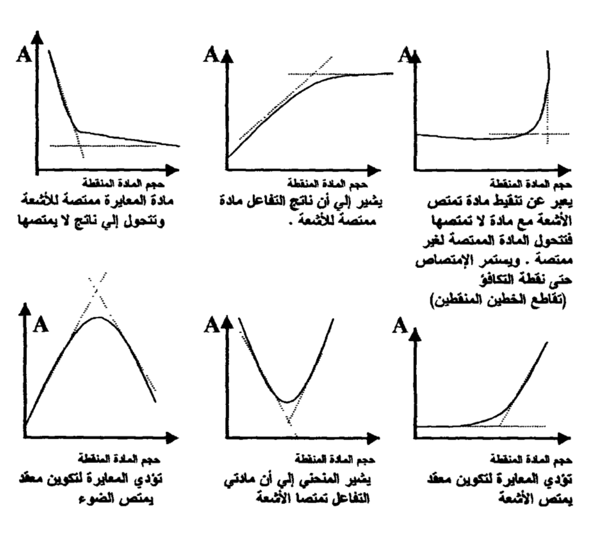
امتصاص المخلوط عن λ_2

= امتصاص الكرومات عند λ_2 + امتصاص البرمنجنات عند λ_2

= ميل الكرومات × تركيزها + ميل البرمنجنات × تركيزها .

المعايرة الفوتومترية (Photometric Titration) :

يمكن استخدام الامتصاص في تحديد نقطة التكافؤ (Equivelant Point) فى معايرة المحاليل وذلك باعتبار أن أحد المركبات المتفاعلة أو نواتج تفاعلها تمتص الأشعة في نطاق منطقة الضوء المرئي حيث ترسم العلاقة بين الامتصاص وحجم محلول أحد المواد المتفاعلة (المحلول المنقط) والعلاقة الناتجة يطلق عليها منحنى المعايرة (Titration Curve) وتتكون من خطين مستقيمين لهما ميل مختلف أحدهما يقع قبل الوصول لنقطة التكافؤ والآخر بعد نقطة التكافؤ تكون نقطة التكافؤ هي نقطة تقاطع الخطين. ويتوقف شكل المنحنى على نوع المادة الممتصة ، شكل رقم (٤-١٠):



شكل رقم (٤-١٠) علاقة شكل منحني المعايرة بنوع المادة الممتصة

٢ ـ طيف الامتصاص في منطقة الأشعة الفوق بنفسجية

(Ultra – Violet Absorption Spectroscopy)

يؤدى امتصاص جزئيات المادة للأشعة الكهرومغناطسية في منطقة الأشعة فوق البنفسجية إلى انتقالات إلكترونية (Electron transition) شكل رقم (٤-١١) نتيجة لأثارتها فتصبح غير مستقرة بتوزيعها الإليكتروني الجديد وهو ما يطلق عليه التحليل الطيفي الإليكتروني (Electron Spectroscopy).

ويتوقف الطول الموجى للأشعة الممتصة على طاقة الانتقال الإليكتروني في الجزئي أي على التركيب الجزئى أي تحليل وصفى للمادة (Qualitative analysis) وفى نفس الوقت تتناسب كثافة الأشعة الممتصة مع عدد الجزئيات بالمحلول المار علية أي تحليل كمي للمادة (Quantitative analysis) وتشمل منطقة الأشعة الفوق بنفسجية منطقة الطيف ذات الطول الموجى ما بين ١٠-٣٨٠ نانومتير وتقسم إلى :

- منطقة أشعة فوق البنفسجية بعيدة (Far (Vaccum) Ultra Violet Light) : وتتراوح طولها الموجي بين ١٠-٢٠٠ نانومتير حيث يعمل الجهاز هنا تحت تفريغ حيث يمتص الهواء الرطب مكونات الأشعة في هذا المدى ويحدث فيها امتصاص للمواد الغير عضوية.

- منطقة أشعة فوق بنفسجية قريبة (Near Ultra Violet Light) :

وتتراوح طولها الموجي بين ٢٠٠-٣٨٠ نانومتير حيث تعمل في نطاقها معظم الأجهزة المتوافرة ويحدث فيها امتصاص للمواد العضوية والحيوية .

ولذا يجب اختيار الطول الموجى المناسب للقياس حتى لا تحدث نقط انقلاب (Cut off point) لا يحدث عندها امتصاص كامل ، وكلما كان الامتصاص على الأشعة يحدث بعيدا عن منطقة الأشعة المرئية كلما كانت

النتائج أكثر دقة فهي تعتمد على الامتصاص النوعي ويمكن زيادة الحساسة بزيادة سمك مسار الممر الضوئي للشعاع أي بزيادة طول مسار الخلية .

تصميم الجهاز (Instrument Design) :

غالبا ما تتفاوت الوحدات المكونة للجهاز من جهاز لأخر بعض الشيء في جزء من وحدة أو عدة أجزاء من وحدة أو أكثر من وحدة ولكن الفكرة الأساسية المبنى عليها تصميم الجهاز واحدة :

١-مصدر الأشعة (Radiation Source) :

ويجب وان تتميز الأشعة الناتجة من المصدر بما يلى :

- أن تكون الأشعة ثابتة من حيث كثافتها الضوئية (Uniform intensity) خلال مدة القياس ومستمرة (Continuos) .
- أن تكون الأشعة محتوية على كل الاطوال الموجبة المستخدمة في التقدير بالجهاز.
- من هنا وجب توصيل الجهاز بمصدر تيار عالي القياس من مثبت التيار (Stabilizer) ليعطى أشعة ثابتة ومستمرة ومستقرة .
- وتستخدم لمبة تفريغ كهربى للهيدروجين أو الديوتيرم (Hydrogen discharge Lamp) تعمل على ضغط منخفض وتيار كهربى.متردد لانتاج أشعة ثابتة ومستمرة ومستقرة وتعطى طول موجبة تغطى هذا المدى .(١٨٠ - ٣٧٥ ناتومتير).
- وقد تحتوى بعض الأجهزة على اللمتين معا وهنا يلازمها قرية جهد عالي (٣٨٠ فولت) لانبعاث إشعاع ١٩٥ -٣٧٥ ناتومتير ويلاحظ وضع مرشح ضوئى خاص بامتصاص الحرارة بين المصدر الضوئي والعينة الامتصاص الأشعة الحرارية.
- ويوجد نوعان من الأجهزة المستخدمة في تقدير الامتصاص بمنطقة الأشعة الفوق بنفسجية من حيث المسار الضوئي :
  - أجهزة وحيدة الحزمة الضوئية (Single beam Spectroscopy) : حيث يوجد مسار ضوئى واحد يصل لوحدة القياس وفيه يقدر الامتصاص بمقارنة التيار الناتج من الخلية سواء للعينة أو

المرجح (حيث مسار الأشعة من المصدر الوحدة القياس يتم تكبيرة لذا يتم القياس على طول موجى ثابت مناسب يوجهة للعينة بتعديل وضع الممر ذو الهندسي للمكان المناسب .

- أجهزة ثنائية الحزمة الضوئية Double beam Spectrossapp :

حيث يوجد مسارين ضوئين يصلا لوحدة القياس أحدهما يمر على العينة ويسمى (Sample beam) والثاني يمر على العينة المرجح ويسمى (References beam) وفية بقدر الامتصاص مباشرة من وحدة التسجيل حيث يتم تغير الطول الموجى بطريقة ذاتية مستمرة للوصول على الاطوال الموجبة المختلفة والنسبة فيهما هي قيمة النفاذية للعينة كدالة للطول الموجى .

أ - مع الوقت حيث تتناوب الأشعة بين العينة والمرجح بمعدل ٦٠ ذبذبة / ث يتم تسلط على الحالة الضوئية فتمولها التيار متردد سعة تناسقية مع الفرق بين الكثافة الضوئية للحزمين.

ب - في الفراغ : حيث تجزى أشعة المصدر بمجزى وعدة مرايا لمسارين أحدهما يسقط على العينة والأخر على المرجع ثم الخلية الضوئية فيقدر الامتصاص بمقارنه نسبة الكثافة الساقطة على الخلتين .

٢-وحدة التحكم في الاطوال الموجبة (Wave length control) :

حيث تقوم بتوجيه جزء من الأشعة الضوئية تحتوى على مدى معين ضيق من الأطوال الموجبة المرغوبة للعينة المراد قياس تركيزها حيث تقوم بفصل مدى معين من الأطوال الموجية للأشعة الناتجة من مصدر الإشعاع وتستبعد باقي الأطوال الأخرى بتشتيتها بوحدة تشتت (Dispersing device) والتى تعطى درجة فصل عالية جدا من خلال عمل مسح لطيف الامتصاص وأعطاء طيف أكثر تفصيلا لقوة تعريفها العالية (High Resolution)

٢-١-المنشور (Prism) :

حيث تعتمد درجة تفريقة أو تشتيته أو مسحه للأطوال الموجبة على اختلاف معامل الانكسار فزوايا السقوط على أحدا وجهة تنحرف بزوايا

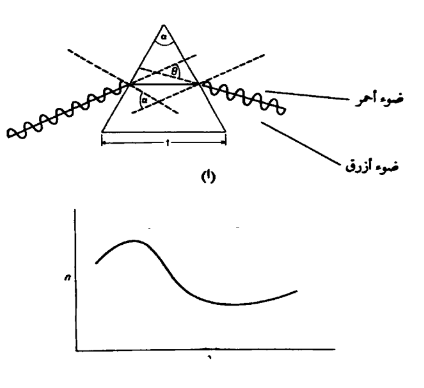
انكسار (R) مختلفة في اتجاه قاعدة الأفقية وتخرج الأشعة المشـــتتة (بعــد انعكاسها على الوجه الأخر) ذات طول موجي معين ضيـــق الواحــدة تلــو الأخرى على الوجهة الخلفي للمنشور فيكون تقدير الامتصاص كدالة للطــول ، الموجي ولهذا أهمية في دراسة كثافة الامتصاص علـــى الأطــوال الموجبــة المختلفة ، شكل رقم (٤-١١) .

في نفس الوقت يعطى استجابة خطية للعلاقة بيـــن الامتصـــاص ومـــدى واسع من التركيز ويعبر عن التشتت الزواى للمنشور (Angular dispersion) :

$$dn/d\lambda \, . \, dr/dn = dr/d\lambda$$

حيث dr/dn : هي التغير في زاوية الانكسار كدالة لمعامل الانكسار لمادة المنشور ويحددها الشكل الهندسي للمنشور وزاوية السقوط المفصلة والتى يكون مسارها موازى لقاعدة المنشور للتغلب على اللابؤرية (Astigmatism) .

$dn/d\lambda$: فتوقف على قدرة التشتت لمادة المنشور:الكوارتز (Quartz) .

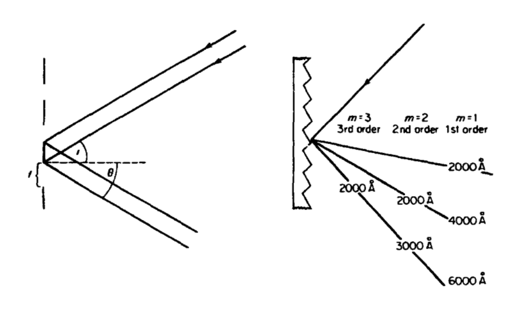


شكل رقم (٤-١١) : مسح الأطوال الموجية بالمنشور

ب – المحزوز (Grating) :

وهو سطح منفذ أو عاكس للإشعاع ويحتوى علـــى عـــدد كبـير مـــن الخطوط المتوازية الدقيقة : التحزيز يتروواح عددها بيـــن ٢٥٠٠–٦٠٠٠٠ حز/ بوصـة وكلما زاد عددها كلما زادت قدرته على التفريق.

فعند سقوط الأشعة علية يحدث لها تشتت خطى على مدى مختلف مـــن الزوايا بدلالة الطول الموجى حيث توجد لكل زاوية عدة قيم مـــن الأطـــوال الموجبة ، شكل رقم (٤–١٢) .



شكل رقم (٤–١١) : آلية عمل المحزوز

٣–وحدة وضع العينة (Sample container : covet)

وهى خلايا مصنوعة من مادة شفافة لا تمتص الأشعة في الطول الموجـــى المستخدم في القياس وعادة ما تصنع من الكوارتــــز (Quartz) أو الســـيليكا المصهورة (Fused silica) حيث تستخدم بأشكال مناسبة (مكعـــب – متـــوازي مستطيلات) لتقليل الفقد بالأشعة نتيجة الانعكاس ويراعـــى توحيـــد أبعادهـــا حيث تعتمد الكثافة الضوئية للشعاع الساقط على طول مسار الضوء (b) المار فيه الشعاع .

٤-وحدة قياس الأشعة : الكاشف (Detector) :

وحدات كهر وضوئية (Photoelectric device) تقوم بتحويل طاقة الشعاع الضوئي الساقط عليها إلي إشارات كهربية (Electric signals) .

وتستخدم لقياس التغير في كمية الطاقة المعتمدة على :

- الطول الموجي : طاقة الفوتون (Photon energy : E)
- كثافة الإشعة الساقطة على وحدة المساحة / ثانية (E / سم٢ /ث) وكلما كان التغير على مدى كبير من الأطوال كلما كان أفضل .
- أستجابتها الكهربية للوحدة G =

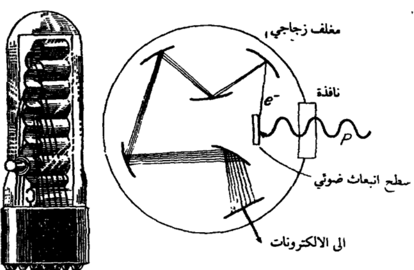
K_1 (حساسة الوحدة / وحدة قوى الأشعة).P (وحدة قوى الأشعة) + K_2 (التيار الناتج عن عدم سقوط أشعة : تيار الإظلام) .

- استجابتها خطية (Linear response) سريعة وثابتة وتصل لأقصى استجابة لها سريعا والاستجابة تناسقية (Co-ordinate) مع قوة الأشعة الساقطة .
- منخفض الضوضاء (Low noise) وذلك يخفض تيار الإظلام للصفر (dark current) لذا تزود بدائرة مكافئة (Compensating circulate) ليتسنى تميز الإشارات الكهربية الضعيفة .
- يمكن تكبير الإشارات الناتجة عنها .

ونظرا لاستخدام وحدات التشتت في فصل الأشعة والتي تكون ذات طاقة منخفضة لاحتوائها على عدد قليل من الاطوال الموجية لذا تستخدم الخلية الضوئية المركبة (Photo multiplier tube) ، فعند سقوط الأشعة على سطح الكاثود المطلي بمواد حساسة للضوء تنطلق منها الإليكترونات للإليكترود الأول فتصطدم به فينبعث منه ٢-٥ إليكترون ثانوي تتحرك بدورها للالكترود الثاني نتيجة فرق الجهد الإضافي بين الإليكترود الأول والثاني وتصطدم بدورها بالإليكترود الثاني فينبعث منه عدد مضاعف من الإليكترونات الثانوية وهكذا ويكون نتيجة ذلك ١٠ ٦-١٠ ٧ اليكترون تنتج عن كل فوتون تصل كلها في النهاية للانود.

ويكون الوقت المستغرق من امتصاص الأشعة بسطح الكاثود ووصول الإلكترونات للأنود هي ١٠ -٩-١٠ -٨ ثابتة ، شكل رقم (٤-١٢) .

وبتشغيل الخلية يزداد فرق الجهد من إليكترون لأخر ويكون فى حــدود ٧٥- ١٥٠ فولت . ويمكن خفض تيار الإظلام بها بتشغليها على درجات حـــرارة منخفضة كما توضع بغلاف محكم يمنع تسرب الضوء أو الإشعاعات الكونية

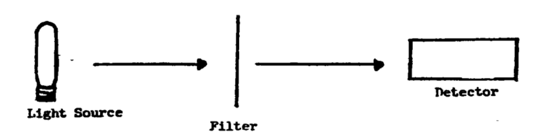


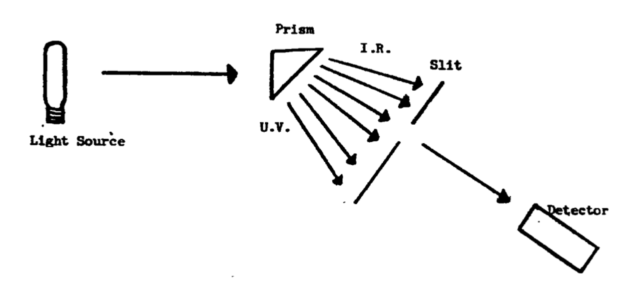
شكل رقم (٤-١٢) : الخلية الضوئية المركبة

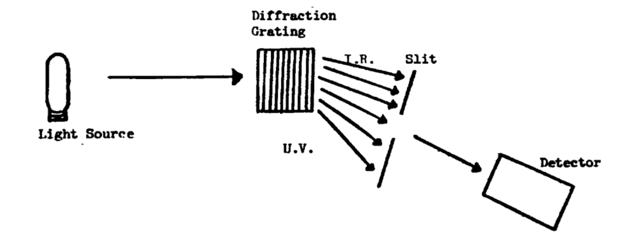
٥-وحدة التسجيل (Recording) :

تقيس كثافة الامتصاص على الأطوال الموجية المختلفـــة كدالـــة للطـــول الموجى حيث تعرض النتائج على رسم بياني لكثافة الامتصاص / الأطـــوال الموجية وهنا يوجد زمن تخلف (Lag time) بين القراءة والقيمة الحقيقة لـــذا يجب اختيار سرعة التسجيل المناسبة (Scanning Speed) ومن هنا أتفق علـــى تعريف ثابت الوقت (Time constant) لوحدة الكشف على أنه الوقـــت الـــلازم لوحدة القياس للوصول إلى ٦٣ % من القيمة العظمى للتدريج عند اســـتقبالها للإشارات الكهربية وغالبا ما تكون أربعة أمثال الوقت المطلوب للوصول إلى ٩٧ % استجابة من الإشارة الكلية ويطلـــق علـــى ذلـــك وقـــت الاســـتجابة (Response time) ويلاحظ أنه عند تكبير الإشارة يزداد الاضطراب الإلكـــتروني والمتناسب مع الجذر التربيعي للتكبير وهو ما يتطلب وقت اســـتجابة أكـــبر ليتناسب مع الجذر التربيعي للتكبير وبالتالي تثبيت الضوضاء.

ويوضح الشكل رقم (٤-١٣) المكونات الأساســـية لأجـــهزة القيـــاس الإسبكتروفوتومترى ذات الحزمة الواحدة والثنائية .







شكل رقم (٤-١٣):المكونات الأساسية لأجهزة القياس

ويفضل قبل الدخول في التحليل الوصفي والكمي للمركبات العضوية باستخدام الامتصاص في نطاق الأشعة فوق البنفسجية التعرف على بعض التعريفات والتسميات الشائعة في هذه التقنية .

□ **المجاميع الممتصة للأشعة (Chromatophore)**

وهى مجموعة أو رابطة كيميائية تمتص الضوء في منطقة الأشعة فوق البنفسجية ، جدول (٤-٢) .

جدول رقم (٤-٢) : أمثلة منها والطول الموجى للأشعة الممتصة

Class	Transition	λmax(nm)	log.	Clam	Transition	λ max (nm)	log.
R-OH	n › o*	180	2.5	R- NO_2	n › n*	271	< 1.0
R-O-R	n › o*	180	3.5	R – CHO	n › n*	190	2.0
R-NH_2	n › o*	190	3.5		N › n*	290	1.0
R-SH	n › o*	210	3.0	R,CO	n › n*	180	3.0
$R_2C=CR_2$	n › n*	175	3.0		n › n*	280	1.5
R-C= C-R	n › n*	170	3.0	RCOOH	n › n*	205	1.5
R-C=N	n › n*	160	< 1.0	RCOOR'	n › n*	205	1.5
R-N=N-R	n › n*	340	< 1.0	$RCONTT_2$	n › n*	210	1.5

٢) مجموعة (Auxochrome) :

مجموعة كيميائية مشبعة لا تمتص الأشعة فوق البنفسجية بينما ينتج عن وجودها مع مجموعة ملونة (Chromophore) تغيير في طول الموجة الممتصة وفى شدة الامتصاص ومن أمثلتها مجاميع الميثيل والأمين والهيدروكسيل والهالوجينات.

٣) الإنتقال الأحمر(Bathochromic effect : Red Shift) :

تغير طول الموجة الممتصة إلى طول موجي أطول نتيجة لتأثير المذيبات أو الاستبدال لبعض المجموعات في الجزى .

٤) الإنتقال الأزرق (Hypsochromic effect : Blue Shift) :

تغير طول الموجة الممتصة إلي طول موجي أقصر نتيجة لتأثير المذيبات أو الاستبدال .

٥) Hyperchromic effect :

ويقصد به الزيادة في شدة الامتصاص .

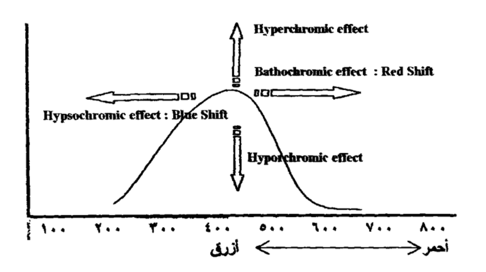
٦) Hyporchromic effect :

ويقصد به نقص شدة الامتصاص .

٧) Maximum absorption :

الطول الموجي الذي يحدث عنده أقوي امتصاص (λ max) .

وفى الشكل (٤-١٤) توضيح لهذه التعريفات .



شكل رقم (٤-١٤) : تعريفات أمتصاص الأشعة فوق البنفسيجية

التحليل الوصفي للمركبات العضوية Qualilative Analysis Of Qrganicc :

يعد التحليل الطيفي للامتصاص الجزيئي للأطوال الموجية في نطاق الأشعة الفوق بنفسجية لتحديد المنطقة التي يحدث الامتصاص وكثافة الامتصاص **وسيلة محدودة** للتعرف على تركيب الجزيئ أو الكشف عن نوع معين من المجموعات أو المركبات من عدمة ، حيث أن الامتصاص في هذه المنطقة **ليس خطى بل شريطي** (bands) يشمل مستويات طاقة **إهتزازية متقاربة عديدة** والمتوقفة على نوع الذرات وعددها وطريقة ارتباطها بالجزئي بالإضافة لتأثير المذيب ويرجع ذلك **للانتقالات الإلكترونية العديدة والمتقاربة** في الطاقة والتى لا يمكن فصلها .

ويتم عرض النتائج في صورة منحنى طيف امتصاص (Absorption Spectra) أو تكيف مع الطول الموجى عند موجة أقصي امتصاص والامتصاص المولى (ε) عندها الطول والذي يعبر عن كثافة الامتصاص أي يعبر عن عدد معين عن الجزئيات.

١-الارتباط الكيميائي المتمركز والهيدروكربونات العضوية

: (Localized chemical bonding & Organic hydyocarbons)

١-١-الرابطة الاشتراكية المتمركزة : (**Localized Covalent bond**):

بالمشاركة الإلكترونية (Electron shearing) بين ذرتين فقط لتداخل إحدى مدارات التكافؤ الخارجية والمحتوية على إليكترون فردى مع مدار ذرة أخرى تحتوى على إليكترون فردى حركته المغزلية مضادة لحركة الأول فيتكون مدارين جزئيين جديدين :

١-١-١-مدار الرابطة (Bonding orbitals) : ويحتوى على إليكترونين مشتركين في تكون الرابطة وطاقته منخفضة وتحكم حركة الإليكترونين نواتي الذرتين .

١-١-٢-مدار مضاد الرابطة (Anti-bonding orb) :لا يحتوى على إليكترونات ولكن يمكن وأن تنتقل أليه الإلكترونات في حالة امتصاص طاقته وطاقته مرتفعة. ومدارته الجزيئية هي π δ .

١-٢-أما الرابطة الفردية فتسمى مداراتها الجزئية بالمدارات سيجماو إليكتروناتها بالإليكترونات سيجما δ.

١-٣-أما الرابطة الزوجية فتحتوى على نوعين من المدارات :

١-٣-١-مدار سيجما δ ويحتوى على إليكترونين .

١-٣-٢-مدار بآي π ويطلق على إلكتروناته الإليكترونات باي وينتج من التداخل الجانبي لمدارى ذرتين من النوع b

وبالإضافة للإليكترونات سيجما و بـــاي فبعــض الــذرات المرتبطـــة بالجزئي مثل (X ، S ، N ، O) تحتوى على إليكترونات في مدارات تكافؤهـــا الخارجية لا تدخل في تكوين الروابط :غير مرتبطة (Non bonding Electron : n) وعلية فالجزيئى العضوي المحتوى على روابط فردية وزوجية وذرات غـــير كربونية (X ، S ، N ، O) تحتوى على ثلاثة أنواع من الإلكترونـــات هــي سيجما و باي وn تنتقل لمدارات طاقتها أعلى بامتصاص الطاقة .

الانتقال ($\delta - \delta^*$) : يحدث بجميع المركبات المحتوية على روابط فردية - كربون سيجما وطاقته مرتفعة وغالبا ما يقع في المنطقة المفرغة من الأشعة فوق البنفسجية .

الانتقال ($n - \delta^*$) : يحدث بالمركبات المشبعة والمحتوية على ذرات نيتروجين وأكسيجين وهالوجين وكبريت ويحتاج لطاقة أقل من الإنتقال الأول ويحدث في المنطقة ١٢٠-٢٠٠نانومتير كالكحولات (تمتص ١٨٥ نانوميتر) .

الانتقال ($\pi - \pi^*$): ويحدث في المركبات الغير مشبعة وطاقته مرتفعة ويحدث في المنطقة ٢٠٠-٧٠٠ نانوميتر.

الانتقال($n - \pi^*$) : ويحدث بالمركبات الغير مشبعة والمحتوية على ذرات نيتروجين وأكسيجين وهالوجين وكبريت ويحتاج لطاقة أقل من الأول ويحدث في المنطقة ٢٠٠-٧٠٠ نانوميتر

٢-الهيدروكربونات المشبعة :

والمحتوية على روابط فردية (إليكترون سيجما) يكون الامتصـــــاص الوحيد فيها نتيجة الانتقال الإليكتروني ($\delta - \delta^*$) عند طول <١٥٠ نانومتر.

٣-الهيدروكربونات المشبعة والمحتوية على ذرة غير كربونية :

وتمتص نتيجة الانتقال الإلكتروني ($n - \delta^*$) في الذرة غير الكربونيـة (O ، S ، N ، X) فالكحولات والأثيرات تمتص على طول موجي أقل مـن ١٨٥ نانوميتر أما الكـبريتيد والـداى كـبريتيد والميركـابتو والأمينـات والهاليدات فتمتـص عنـد طـول موجـي ٢٠٠-٢٦٠ نـانوميتر ويكـون الإمتصاص المولي لها من ١٠٠٠-٣٠٠٠ ل سم$^{-1}$ مول$^{-1}$.

٤- الهيدوكربونات غير المشبعة

- والمحتوية على روابط زوجية وثلاثية (إلكترونات بـاي) يحـدث انتقال إلكترونية ($\pi — \pi^*$) ويحدث الامتصاص فيـها علـى طـول موجي أقل من ٢٠٠ نانوميتر وتكون شدة الامتصاص المولـي أكـثر من ١٠٠٠٠ .
- أما إذا احتوت على أكثر من روابطة زوجية تنفصل برابطة فرديـة أي نظام غير مرتبط فيحدث الامتصـاص المولـي عنـد ١٠٠٠٠- ٢٠٠٠٠ نانوميتر.
- أما إذا أحتوى على رابطة زوجية يلها رابطة فردية أي نظام مرتبـط فيحدث الامتصاص لها عند طول موجي كبير (طاقة أقل) وترتفع قيمة الإمتصاص المولي كثيرا.

٥-مركبات غير مشبعة تحتوى على رابطة زوجية بين الكربون وذرة غـير كربونية :

كالكربونيل والكربوكسـيل و الإسـتر و الآزو ميثيليـن (C = N -) والمحتوية على إلكترونات باي وسيجما ، n يظهر فيها ثلاث أمتصاصـات نتيجة ثلاث انتقالات :

($\pi — \pi^*$) ويحدث فيه امتصاص ذو كثافة مرتفعة عند ١٥٠ نانوميتر.

($n -- \pi^*$) ويحدث فيه امتصاص ذو كثافة متوسطة ١٣٠ نانوميتر .

($n -- \pi^*$) ويحدث فيه امتصاص ذو كثافة منخفضة٢٧٠-٣٠٠ نانوميتر حيث الإمتصاص المولي أقل من ٣٠ .

٦-المركبات العطرية

يحتوى البنزين على ثلاث مدارات باي بكل منها إليكترونين باي وتحتوى على ثلاث مدارات π^* غير مشغولة بالإليكترونات لذا تحدث ثلاث امتصاصات بالحلقة نتيجة ثلاث انتقالات وهي :

(π_3—π_6^*) : فيحدث فيها امتصاص عند ١٨٤ نانوميتر وكثافة ٦٠٠٠

(π_3—π_5^*) : فيحدث فيها امتصاص عند ٢٠٤ نانوميتر وكثافة ٧٩٠٠

(π_3—π_4^*) : فيحدث فيها امتصاص عند ٢٦٥ نانوميتر وكثافة ٢٠٠

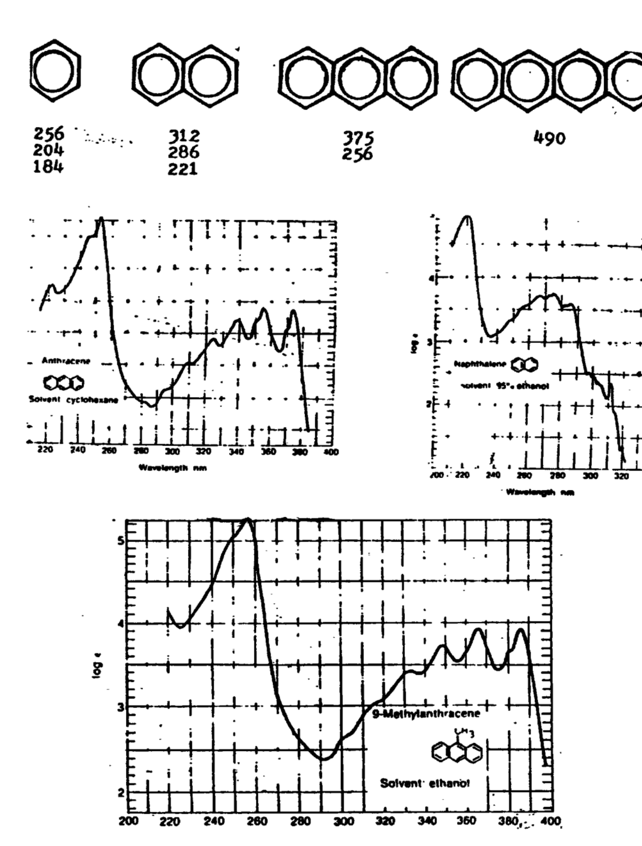
ويتغير موضع هذه الأمتصاصات عند دخول مجاميع استبداليه بالحلقة وفى المركبات العطرية المحتوية على أكثر من حلقة تنتقل الأطوال الموجية لهذه الامتصاصات لأطوال موجية أكبر مع زيادة بكثافة الامتصاص ، شكل رقم (٤-١٥)

٧- الامتصاص بالمواد الغير عضوية :

يتكون الامتصاص في الحالة الغازية من عدد محدود من خطوط الطيف والتى تمثل انتقالات إلكترونية لإليكترونات التكافؤ ففي المحاليل الغير عضوية والذي غالبا ما يشابه المركبات العضوية (طيف شريطي لا يظهر فيه التركيب الدقيق).

٨ ـ الامتصاص الناتج عن انتقال الشحنة :

وترجع أهميته لارتفاع كثافة الامتصاص (<١٠٠٠٠) وبذلك يمكن الكشف عنها بتركيزات منخفضة جدا وكثير من المركبات المعقدة تظهر هذا الامتصاص ولذلك تسمى معقدات انتقال الشحنة مثل ثيوسيانات الحديد أو الفنيولات مع الحديد ولكي تظهر طيف انتقال لابد أن تكون أحد عناصر المعقد لها القدرة على إعطاء إليكترون والجزء الآخر له القدرة على اكتساب الإلكترون (أستقبالة) أي أكسدة وأختزال.



شكل رقم (٤-١٥) : طيف إمتصاص لمركبات عطرية في منطقة الأشعة الفوق بنفسيجيه

٢-الارتباط الكيميائي الغير متمركز (De localized Chemical bonding)

ويتكون بالمشاركة الإليكترونية بين أكثر من ذرتين فتحدث عملية التداخل للمدارات في ثلاث ذرات أو أكثر ويظهر هذا النوع بثلاث أنواع رئيسية :

٢-١-المركبات الهيدروكربونية العضوية غير المشبعة المحتوية على رابطة زوجية (أو ثلاثية) متبادلة :

كجزئيي البيوتادين فتهجينه من النوع Sp^2 فكل ذرة $CH_2–CH=CH–CH^+_2$
كربون تكون ثلاث روابط فردية من النوع سيجما $CH_2-{}^+CH=CH–CH_2$
باستخدام المدارات وتتضمن على كل ذرة مدار Sp^2 $CH_2=CH-CH=CH_2$
P يحدث تتداخل لهذه المدارات الأربعة فتتكون مدارات جزئية اثنان منها ذات طاقة منخفضة ولكل منها إليكترونين لذا يمثلان مدارات الرابطة من النوع π^* أما المداران الأخران فطاقتهما مرتفعة ولا يشغلا بالإليكترونات ويمثلا أن المدارين π^* ويؤكد ذلك وجود خصائص الرابطة الزوجية في الرابطة الوسيطة الفردية كما أن الرابطين الطرفيين ليستا كاملا الزوجية ولهذا ينظر للمركب على أنه خليط من صور تركيبة : رنين Resonance .

ويحدث الامتصاص عند الطول الموجى ٢١٧ ويكون الامتصاص المولى كبير جدا ٢١٠٠٠ .

- أما إذا أحتوى المركب على أكثر من رابطة زوجية تنفصل برابطة فردية وبنظام غير متبادل فيحدث الامتصاص عند الطول الموجى الخاص بالرابطة الزوجية ويكون الامتصاص المولى ١٠٠٠٠-٢٠٠٠٠

٢-٢ - المركبات الهيدروكربونية العضوية غير المشعبة المحتوية على رابطة زوجية أو (ثلاثية) مع مدار p على ذرة مجاورة :

عند وجود المدار p على ذرة مجاورة لرابطة زوجية فانه يوجد ثلاث مدارات متوازية تتداخل مع بعضها فتعطى ثلاث مدارات جزيئية يطلق عليها مدار الرابطة ومدار غير مكون للرابطة ومدار مضاد للرابطة $CH_2=CH-\varphi$

فقد يحتوى أو لا يحتوى المدار p المجاور للرابطة على إلكترونات وطالما أن الرابطة الزوجية تحتوى على الكتروتين فان عدد الإليكترونات التي تشغل المدارات الجزئية هي بالترتيب ١و٤ وبالرغم من أن المدار p على ذرة الكلور يحتوى على إليكترونين فما زال له القدرة علي التداخل مع مدارات الرابطة الزوجية وتشغل الأليكترونات الأربعة المدارات الجزيئية ذات الطاقة المنخفضة (المدارات المكونة للرابطة والغير مكونة للرابطة) . أما إذا كان عدد الإلكترونات ٣و ٢ فيكون فيها المدار p يحتوى على إليكترون واحد أو لا يحتوى على إلكترون فتوجد عادة في الشقوق الحرة والكاتيونات على الترتيب .

٢-٣-المركبات العطرية (Aromatic compounds) :

كالبنزين وسبق شرحها والجدول التالي رقم (٤-٣) يوضح الامتصاصات الرئيسية للبنزين ومشتقاته :

جدول (٤-٣) : الامتصاصات الرئيسية للبنزين ومشتقاته

المركب	E_2 – band		B.band		المذيب
	أقصي طول موجي	أقصي إمتصاص مولي	أقصي طول موجي	أقصي إمتصاص مولي	
Benzene	204	7,900	256	200	Hexane
Chlorobenzene	210	7,600	265	240	Ethanol
Thiophenol	236	10,000	269	700	Hexane
Anisole	217	6,400	269	1,480	2% Methane
Phenol	210,5	6,200	270	1,450	Water
Phenolate anion	235	9,400	287	2,600	Aq . alka
0.Catechol	214	6,300	276	2,300	Water (ph3
0.Cateholate anion	236.5	6,800	292	3,500	Water (ph11
Aniline	230	8,600	280	1,430	Water
Anilinium cation	203	7,500	254	160	Water
Diphenyl ether	255	11,000	272	2.000	Cyclo hexane

جدول رقم (٤-٤) : صفات الإمتصاص لإستبدالات ملونة علي البنزين

	π – π Transition (K- band)		B- band		n → π* Transition (R-band)		
المركب	λ max	εmax	λ max	εmax	λ max	εmax	المذيب
Benzene	-	-	255	215	-	-	Alcohol
Styrene	244	12,000	282	450	-	-	Alcohol
Ph.acetylen	236	12,500	278	650	-	-	Hexane
Benzeldehyde	244	15,000	280	1,500	328	20	Alcohol
Acetophenone	240	13.000	278	1,100	319	50	Alcohol
Nitrobenzene	252	10,000	280	1,000	330	125	Hexane
Benzoic acid	230	10,000	270	800	-	-	Water
Phenyl cyanide	224	13,000	271	1,000	-	-	Water
Diphenyl sulfoxide	232	14.000	262	2,400	-	-	Alcohol
Ph.m.sulfone	217	6.700	264	977	-	-	-
Benzo phenone	252	20,000	-	-	325	180	Alcohol
Biphenyl..	246	20,000	s.mer	-	-	-	Alcohol
Stilbene (cis)	283	12.000	s.mer	-	-	-	Alcohol
Stilbene (trans)	295	25,000	s.mer	-	-	-	Alcohol
1 – Pheny 1-1,3- butadiene cis	268	18,500	-	-	-	-	Isooctane
trans.	280	27,000	-	-	-	-	Isooctane
1,3- pentadiene							
cis	223	22,600	-	-	-	-	Alcohol
trans	223.5	23,000	-	-	-	-	Alcohol

٢-٤-الامتصاص بمواد غير عضوية (Absorption by Inorganic) :

وهنا يكون الامتصاص في الحالة الغازية ويتكون من عدد محدود من خطوط الطيف والممثلة لانتقالات إليكترونية لإليكترونات التكافؤ بمحاليل غير عضوية والتي غالبا ما تشابه المركبات العضوية (طيف شريطي لا يظهر التركيب الدقيق) .

٢-٥-الامتصاص الناتج عن أنتقال الشحنة (Absorption by charge transfer)

وترجع أهمية هذا النوع من الإمتصاص إلي ارتفاع كثافة الامتصـــاص (١٠٠٠٠) ويمكن الكشف عن هذه المواد بتركيزات منخفضة جدا .
ويظهر هذا الامتصاص كثير من المركبات المعقـــدة مثـــل معقـــدات انتقال الشحنة كثيوسيانات الحديد و فينولات الحديد.
ولكي يظهر أمتصاص (أنتقال) لابد وأن يكون أحد عناصر المعقد لـــه القدرة على أعطاء إليكترون والأخر يكسب هذا الإليكترون :أكسدة و أخـــتزال و من أمثلة انتقال الشحنة ما يلي :

- اللون الأحمر لمعقد الكلورانيل الأصفر وسادس ميثيل البنزين عديـــم اللون .
- اللون البنى لمعقد اليود مع الهيدروكربون الأروماتي

$$Fe^{3+}(OH^-) \rightarrow Fe^{2+}OH$$
$$Fe^{2+}(OH)_n \rightarrow Fe^{3+}(H_2O)n$$

العوامل المؤثرة على الامتصاص :

ينتج الامتصاص عن الانتقالات الإليكترونية بمجموعة كيميائية خاصـــة بـــالجزئي كـــالروابط : $(\pi - \pi^*)$ و $(n - \delta)$ و $(\delta - \delta^*)$ و O ، N ، S ، X والعوامل المؤثرة على الامتصاص مثل التأثير المتبـــادل بيـــن المجموعـــات ودرجة قربها من بعضها كتـــأثير الروابـــط الزوجيـــة المتأينـــة والســـحب الإليكترونية والعوامل المحيطة كالحموضة و قطبية الجزيئ والمذيب .

١-تأثير تبادل الروابط الزوجية :

فيحدث الإمتصاص للإثيلين (للانتقال : $(\pi - \pi^*)$: Sp^2-Sp^2) عند طـــول موجى ١٦٥ نانوميتر ويحدث الامتصاص للمركب٣و١ بيوتاداتين (للانتقـــال $(\pi - \pi^*)$:) عند طول موجى ٢١٧ نانوميتر .

ويرجع الاختلاف بطاقة الإنتقال لحدوث تتداخل بين المدارات p الأربعة على ذرات الكربون المتجاورة بالبيوتاداايين فتنتج مستويات طاقة تختلف عما بالاثيلين . أي أن طاقة المدارات باي بالرابطة غير المتمركزة بالبيوتاداايين تختلف عن مثيلتها باي بالرابطة باي المتمركزة بالإثيلين ويحدث انتقال أخر في البيوتادين نتيجة الانتقال :(π_1—π_4*) وطاقته كبيرة ويقع في المنطقة المفرغة.

أي أن زيادة عدد الروابط الزوجية المتبادلة تؤدى لحدوث تغير في الطول الموجى للامتصاص لطول موجى أكبر مع زيادة كثافة الامتصاص .

٢-تأثير توجيه المجموعة الممتصة:

للوضع الفراغي للمجموعة الممتصة تأثير على الطول الموجي وكثافة الامتصاص كما بالأحماض النووية فتزداد كثافة امتصاصة عند تحوله النموذج الحلزوني المزدوج (Double helix) للصورة وحيدة السلسلة (Single strand) وتزداد كذلك بتحول الأخيرة لنيوكليوتيدات حرة و بذا يمكن استخدام طيف الامتصاص في دراسة التحولات الكيميائية والطبيعة للأحماض النووية.

٣-تأثير درجة الحموضة : أس أيون تركيز الهيدروجين (pH) :

تؤثر درجة الحموضة على درجة تأين المجموعة الممتصة أو المجاورة لها فيتغير الطول الموجى وكثافة الامتصاص نتيجة أن الشحنات الكهربية بالمجاميع المتأينه تؤثر على مستويات الطاقة والتوزيع الإليكتروني بالمجموعة الممتصة وبالتالى على الطول الموجي ومعامل الإمتصاص المولي الخاص بها خاصة مع الأحماض الأمينية ومن هنا يمكن استخدام طيف الامتصاص في دراسة تتبع التحولات الطبيعة والكيميائية بالأحماض الأمينية .

٤-تأثير قطبية المذيب :

تتأثر المجموعات القطبية الممتصة (Polar chromophor) خاصة المحتوية على أكسيجين أو نيتروجين أو كبريت بقطبية المذيب فتحدث أمتصاص على طول موجى أقل عنه في حالة المذيبات الغير قطبية ومنها أيضا يمكن

استخدام طيف الامتصاص في دراسة تتبع التحولات الطبيعة من وسط قطبـي لأخر غير قطبى.

التحليل الكمي (Quantitative Analysis) :

يمكن استخدام الامتصاص في منطقة الأشعة فـوق البنفسـجية للتقديـر الكمي لمركب أو أيون يمتص الأشعة الكهرومغناطسية فـي نطـاق الأطـوال الموجية لهذه المنطقة بفرض عدم حدوث تتداخل مع مركبات أخرى في هـذا المدى . كما يمكن أجراء التحليل الكمي لمركب آو ايـون لا يمتـص الأشـعة الضوئية عند هذا المدى بتحويلها لمشتقات تمتص الأشعة عنـد هـذا المـدي ويمكن تقدير المركبات حتى تركيز يصل إلى ١٠$^{-٧}$ ١٠$^{-٤}$ مولر .

ويتم التقدير الكمي من منحى الامتصاص مباشرة أو من معامل الامتصـاص المولى (ε) إذا كان معروف عند الطول الموجى المستخدم : $C = A/ \varepsilon L$

كذلك يمكن تقدير مركب في مخلوط بافتراض عدم وجود تتداخـل بينـة وبين المركبات الأخرى بالمخلوط على الطول الموجى الخاص بالمركب أمـا إذا وجد تتداخل بين امتصاص المركب وامتصاص مركبات أخرى بـالمخلوط عند الطول الموجى الخاص بالمادة فيمكن أجراء تصحيح بأجراء القياس على طول موجى أخر بجانب القياس على الطول الموجى الأول أي أنـة يعتمـد على اختلاف المادة والمركبات (المخلوط معها في المخلـوط) فـي مقـدرة امتصاصها للضوء عند أطوال موجية في طيف الأشعة المقدر عليها:

فإذا احتوى المخلوط على مركبين ١ و ٢ لهما طيف امتصـاص كمـا بالمنحنى التالي فأنة يمكن تقدير تركيز كل مركب بالمخلوط وذلـك بتقديـر الامتصاص للمخلوط على طولين موجيين λ_1 ، λ_2



$$\lambda_1 \ \varepsilon_2 C_2 + \lambda_1 \ \varepsilon_1 C_1 = A1$$

$$\lambda_2 \ \varepsilon_1 C_1 + \lambda_2 \ \varepsilon_2 C_2 = A2$$

حيث الإمتصاص المولي :

$\lambda_1 \varepsilon_1$ و $\lambda_1 \varepsilon_2$ و $\lambda_2 \varepsilon_2$ و $\lambda_2 \varepsilon_1$ تقدر لمحلول كل مادة علي حدة

وبحل المعادلتين يمكن أيجاد قيمة C_1 ، C_2 ويلاحظ أن هذا ما يحـــدث عنـــد تقدير مركب النيكوتين (Nicotine) السام مع مركب الددت (DDT) السام .

ويلاحظ :

١ - أن تكون العينة المقاسة مذابة في مذيب عالي النقاوة خالي من الشـــوائب التي تمتص الأشعة عند الطول الموجى الممتص عليه مادة العينـــة وأنســب المذيبات هي الأسيتيونتريل ، والبيوتــانول ، الهكســان الحلقــي والميثــانول والاثير البترولى والجدول التالي (٤-٥) يوضح ملائمة الأطـــوال الموجيــة لبعض المذيبات المستخدمة في نطاق الأشعة فوق البنفسجية .

٢-يلزم تنقية المركب المقاس جيدا (Vigorous clean up) .

٣-ألا تحتوى العينة المقاسة على مواد تتفاعل مع الجوهر الكشاف المعطـــى للون أو الدليل فينتج لون يمتص عند نفس الطول الموجـــى الممتــص علية المركب .

٤-أختيار مدى الطول الموجى المناسب للقياس فلا تحدث نقط أنقلاب (Cut off points) لا يحدث عندها امتصاص كامل .

٥-كلما كان الامتصاص الأكبر (Amax) للأشعة الضوئية يحدث بعيدا عـــن منطقة الضوء المرئى (Visible light) كلما كانت النتائج أكثر دقة وحساســية فهي تعتمد أساسا على الاستفادة من الامتصاص النوعى .

٦-يمكن زيادة دقة الحاسية بزيادة سمك الممر الضوئي للشعاع مـــن خـــلال خلايا ذات ممر ضوئي طويل أو أستخدم عينة حجمها منخفض نسبيا مع ممر ضوئي قصيرا (١ سم) .

وخلاصة القول نحد أن القياس بالأشعة فوق البنفسجية يمكن من خلالـــة أجراء القياس النوعي حيث يعرف المركب بناءا على الطول الموجى الـــذي يعطى أعلى امتصاص وذلك من خلال رسم منحنى الامتصاص كمـــا ســبق الإشارة إليه كما وأن بعض الأجهزة تكون مزودة بنظـــام فحـــص أو مســـح أتوماتيكي (Scanning) والذي من خلاله يمكن معرفة طول الموجة الذي يعطى أعلي امتصاص للعينة مجال التعريف كما يمكن أجراء القياس الكمي وذلـــك من خلال عمل المنحنى القياسي لمادة التقدير وإيجاد قيمة الثابت (K) ومـــن خلالها يمكن معرفة تركيز العينة المجهولة والتـــى تســاوى قيمـــة الكثافـــة

الضوئية (O.D) مقسوم على ثابت (K) وما هو جديد بالذكر عدم الخلط بين قيمتي absorbance ، absorption حيث :

جدول (٤-[illegible]) : الأطوال الموجبة لبعض المذيبات في نطاق الأشعة فوق البنفسجية .

المذيب	الطول الموجي	المذيب	الطول الموجي
أستيون	٢٣٠	٢,١ - داى كلوروايثان	٢٣٥
أسيتونتريل	٢١٠	داى كلورميثان	٢٣٥
بنزين	٢٨٠	ن,ن- داى ميثيل فورماميد	٢٧٥
٢،٢٤ -ترای ميثيل بنتان	٢١٠	ميثيل سيكلوهكسان	٢١٠
ميثانول	٢١٠	رابع كلوريد الكربون	٢٦٥
بروموفورم	٣٦٠	ميثيل فورمات	٢٦٠
كحول بيوتايل	٢١٠	كلوروفورم(مثبت بالكحول)	٢٤٥
بيريدين	٣٠٥	ايثيل ايثر	٢١٠
تتراكلوروايثيلين	٢٩٠	ميثانول	٢١٠
نيتروميثان	٣٨٠	كحول ايزوبروبيل	٢١٠

حيث أن absorption = الضوء النافذ I - (الضوء النافذ I / الضوء الساقط Io) وبالضرب × ١٠٠ نحصل على % للامتصاص absorption وفي حالة قراءة الجهاز كنسبة مئوية للامتصاص فانه يجب وأن تحول إلى قيم absorbances (أمتصاص) عند طرحه قيمة أمتصاص العينة Blank من امتصاص العينة مجال التقدير وكذا عند طرحه امتصاص عينة Blank للمركب القياس من امتصاص عينة المركب القياس نفسه لتلافى خطأ لتقدير.

كما ويمكن حساب تركيز العينة المجهولة من خلال نقطة واحدة للمركب القياس من المعادلة التالية :

تركيز العينة المجهولة = امتصاص العينة / امتصاص القياس × تركيز المركب القياس

٣–طيف الامتصاص بمنطقة الأشعة تحت الحمراء (Infra Red Absorption Spectroscopy)

تقع الأشعة التحت حمـــراء بيـــن الأشـــعة المرئيـــة (٧٠٠نـــانوميتر) والموجات القصيرة (٠,١ سم) ويقسم مداها إلى :

١–منطقة الأشعة التحت حمراء القريبية (Near Infra Red) :
وتقع بين المدى ٠,٧٥–٢,٥ ميكرو متر وتـــؤدى لحركـــات اهتزازيـــة بالجزئ وتستخدم لها لمبة تنجستن كمصدر للأشعة ومنشـــورين أو محـــزوز ومنشور كنظام ضوئي وكاشف كبريتيد الرصاص .

٢–منطقة الأشعة التحت حمراء المتوسطة (Mid Infra Red) :
وتقع بين المدى ٢,٥–٥٠ ميكرومتر وتؤدى لحركات اهتزازية بـــالجزيئ وهي أكثر المناطق استخداما ويستخدم لها لمبة ترنست أو القصب المتوهـــج كمصدر للأشعة ومنشورا أو محـــزوز ومرشـــح كنظـــام ضوئـــي وإحـــدي الكاشفات التالية :< (Thermopile ,Thermister & Pyroelectric)

٣–منطقة الأشعة التحت حمراء البعيدة (Far Infra Red) :
وتقع بين المدى ٥٠–١٠٠ ميكرومتر وتؤدى لحركات دورانية بـــالجزئي ببعض الأجهزة الحديثة وتستخدم لها قوس الزئبق تحـــت تفريـــغ كمصـــدر للأشعة ومحزوز ٧٠٠–١٠٠٠ ميكرومتر كنظام ضوئي وإحدي الكاشـــفين : المزدوجة الحرارية أو Pyroelectric .

ويؤدى أمتصاص الجزئيات للأشعة الكهرومغناطسية بنطـــاق الأشـــعة التحت حمراء إلي :

- لتغير قيمتى طول الرابطة والزوية بينهما .
- الانتقال الجزئي من مستوى طاقة اهتزازي لأخر أعلى منـــة فينتـــج طيف الأشعة التحت حمراء .

وبتحليل طيف الإمتصاص بمنطقة الأشعة تحت حمراء يمكن :

- تقدير طاقة الامتصاص (الاهتزازات) لمعرفة نوع الــذرات والروابــط فتزداد صعوبة التحليل بزيادة عدد الذرات أوالمجموعات لزيــادة وتداخــل عدد الأمتصاصات.
- وتتوقف عدد الحركات الاهتزازية بالجزيئ على نوع وعدد الذرات:
  - فعددها بالجزيئات الخطية يساوي ٣ن -٥
  - وعددها بالجزيئات الغير خطية ٣ن -٦
- وتمثل كل حركة اهتزازية مستوى طاقة اهتزازي ينتقل لــه الجزئــي ويطلق عليها الأمتصاصات الجزيئية

ويلزم لوصف موضع ذرة بالفراغ (نظرية امتصاص الأشعة التحــت الحمراء) ثلاث أحداثيات (Z ، Y ، X) : وكل أحداثي يعبر عــن درجــة حرية تعبر عن حركته المحتملة بالفراغ وهي :

١ - الحركات الانتقالية (Transitional motion) :

تعبر عن حركة الجزئى الانتقالية كوحدة بالوسط الموجــود فيــه إلــي مستوي طاقة مستمر فتحدد موضعه الجديد بالنســبة لمركــز كتلــة بثــلاث أحداثيات بالفراغ (ثلاث درجات حرية للجزئيات الخطية والغير خطية).

٢ - الحركات الدورائية (Rotational motion) :

تعبر عن حركة الجزيء الدورانية حول أحد الاحداثيات المارة بمركــز كتلتة ، حيث يمثل :

* اتجاه الدوران بمستوى طاقة
* ومعدل الدوران بمستوى طاقة

ويوجد للجزئيات :

- الخطية درجتان حرية للحركات الدورانية لحدوثها في أحداثين .
- الغير خطية ثلاث درجات حرية لحدوثها في ثلاث أحداثيات .

٣ - الحركات الاهتزازية (Vibrational motion) :

وتعبر عن حركة الجزيء الاهتزازية وهى أما :

٣-١-حركات اهتزازية تمددية (Stretching V.m.) :

وهو التمدد الدوري في المسافة المحورية للرابطة وهو أما :

٣-١-١-تمدد بسيط (Simple Stretching V.m) : التمدد الدوري للمسافة المحورية لرابطة بين ذرتين.

٣-١-٢-تمدد مركب(Complex Stretching V.m): التمدد الدورى للمسافة المحورية لرابطين بين أكثر من ذرتين وهو أما :

٣-١-٢-١-تمدد مركب متماثل (VS) : تتمدد الرابطتين معا بنفس الوقت.

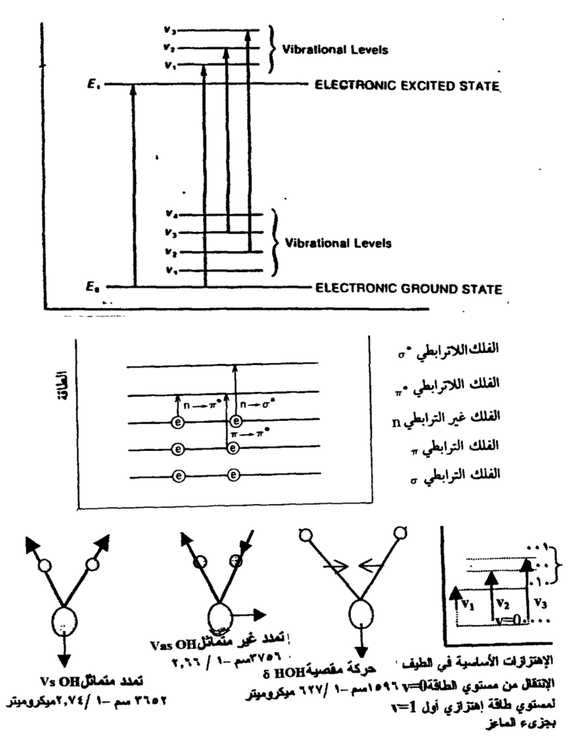
٣-١-٢-٢-تمدد مركب غير متماثل(Vas) :تتمدد إحدى الرابطتين وتتكمش الأخرى .

٣-٢-حركات اهتزازية انحنائية : (Bending vibrational motion):

وهو التمدد الدورى في الزواية بين الرابطتين فتتحرك الذرات في اتجـــاه أو غير اتجاه محور الرابطة أو مستوى غير مستوى الرابطتين ، شكل رقـــم (٤-١٦) .

ويعد طيف الامتصاص للأشعة تحت الحمراء بصـــــة ممـــيزة لـــتركيب الجزيئ أي للتعرف على الجزئيات حيث يحدد :

١- نوع التماثل بالجزئيات المعدنية
٢- التوجيه الفراغى للمجموعات الكيميائية لبعض الجزئيات البللورية
٣- الكشف عن التغيرات الحادثة بالجزئي نتيجة تفاعلها وتكون جزئيـــات جديدة
٤- الكشف عن التاثير المتبـــادل بـــها دون حـــدوث تفـــاعل (روابـــط الهيدروجين وقوتها)
٥- الكشف عن التاثير المتبادل بين الجزئيات.



شكل رقم (٤-١٦) :الحركات الإنتقالية والدورانية والإهتزازية بالجزيء

فموضع الأمتصاصات بالطيف يشير لنوع الرابطة والذرات المكونة لها :

- فيتغير موضع امتصاص الحركات الاهتزازية :
  - الغير متمركزة : التي يحدث بها تأثير متبادل لذا فقائدتها عالية للتعرف على المجموعات الدالة بالجزئي
  - المتمركزة : التي لا يحدث بها تأثير متبادل لذا فقائد لها عالية للتعرف على المجموعات الدالة بالجزئي ($NH,SH,OH,CO,CH_3, CH_2,CH$)

- أما عدد الأمتصاصات بالطيف فتشير لعدد الذرات بالجزئي والذي قد لا يتطابق مع العدد المسحوب ويرجع إلى:
  - خروج تردد أشعة امتصاص إحدي الحركات عن نطاق تردد الجهاز.
  - قرب الامتصاصات من بعضها فتظهر وكأنها امتصاص واحد.
  - حدوث بعض امتصا صات الحركات في الاهتزازية العالية على نفس تردد الأشعة فيتطابقا وكأنهما امتصاص واحد .
  - غياب امتصاص بعض الحركات الاهتزازية لعدم حدوث تغير بقطبية الجزيئ لحركته أو تغير ضئيل يصعب تميزة .

- أما كثافة الامتصاصات بالطيف فتشير لنوعية الروابط وبالتالي درجة قطبية الجزيئي والمتوقفة على :
  - حجم التغير الدورى في القطبي للمجموعة المتحركة بالجزئي مثل CO القطبي الغير متماثل فتغير طول الرابطة بين O ذو الكثافة الإليكترونية العالية الأكبر من الكربون فينشا مجال كهربي متذبذب يتفاعل مع المجال الكهربي للأشعة فإذا توافق ترددهما تتغير السعة الاهتزازية للجزيئ لإمتصاص الطاقة فيحدث انتقال اهتزازي (فىحين جزيئي الهيدروجين الغير قطبي لا يحدث له امتصاص).

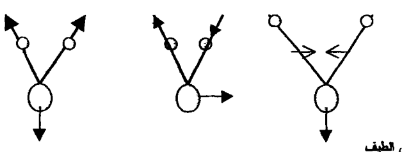
الانتقال الاهتزازي (V. transition) :

توجد الجزئيات على درجة حرارة الغرفة في مستوى الطاقة الاهتزازي الفردي صفر (V=o) أما مستويات الطاقة الأخرى فكل منها

مستوي طاقة إهتزازي يعبر كل منها عن طاقة حركة إهتزازية في رابطة أو مجموعة كيميائية بالجزيء . فالجزيء غير الخطي ثلاثي الذرة (Tri aomic) يحتوى على ثلاث مستويات $v = 1$ ، $v = 2$ ....

ويتم الانتقال الاهتزازي تبعا لقاعدة الاختيار بالميكانيكا الموجية بحيث يكون التغير في رقم الكوانتم الاهتزازي = الوحدة ($\Delta V = 1$) أي يتم الانتقال من $v = o$ ، $v = 1$. ونظرا لأن الجزئيات على درجة حرارة الغرفة تكون في مستوى الطاقة الاهتزازي الأصغر فإن الانتقال يكون من $v = o$ ، $v = 1$ وهو ما يسمى بالانتقال الاهتزازي الأساسي (Fundamental v.) وهو المشاهد في طيف الأشعة التحت حمراء عادة ، ولو أنه ببعض الأحيان يشاهد انتقال اهتزازي يكون التغير في رقم الكوانتم الاهتزازي له تساوى ٢ ($V = 2$) ويطلق على هذا الانتقال (Overton) .

فجزئي الماء غير خطى يحتوى على ثلاث ذرات وبذا يحتوى مستوى الطاقة الاهتزازي الأول $V = 1$ على ثلاث مستويات ($3 = 6 - 3 \times 3 = 6 - 3N$) وهو التمدد المتماثل (V_s OH) والغير متماثل (V_{as} OH) والتغير في زوايا الروابط حركة مقصية (δ_s HOH) وعلية فجزئي الماء يكون الانتقال من $v = o$ لأحد المستويات الثلاثة الموجودة في المستوى $v = 1$ بامتصاص الأشعة التحت حمراء كما بالشكل التالي (٤-١٧) :



v_1 v_2 v_3 $v=0$

الإهتزازات الأساسية في الطيف الإنتقال من مستوي الطاقة0=v لمستوي طاقة إهتزازي أول v=1 بجزيء الماء.

تمدد متماثلVs OH　　تمدد غير متماثلVas OH　　حركة مقصيةδ HOH

١٥٩٦سم-١ /٦٢٧ ميكروميتر　　٣٧٥٦سم-١ / ٢,٦٦　　٣٦٥٢ سم-١ /٢,٧٤ميكروميتر

شكل رقم (٤-١٧): التمدد المتماثل والغير متماثل والحركة المقصية للماء

التغير في العزم القطبي : Dipole moment :

لكي يحدث امتصاص للأشعة بأي حركة اهتزازية يحدث تغير في العـزم القطبي للجزئي نتيجة الحركة وهنا يتفاعل المجال الكهربي المتناوب للأشـعة مع الجزئى ويحدث تغير في حركة الذرات بالجزئي .

فعلى المثال توزيع الشحنات بجزئي (C O) غير متماثل حيــث تحتـوى إحدى ذرات الأكسيجين على كثافة إليكترونية أكثر من ذرة الكربـون فعنـد تغير المسافة بين الذرتين بالحركة الاهتزازية ينشا مجال كـهربي متذبـذب بالجزئي ويتفاعل مع المجال الكهربي بالأشعة فإذا كانـا ترددهمـا متوافقـا فيحدث انتقال لطاقة الأشعة فتتغير بذلك السعة الاهتزازية للجزئي (يحـدث انتقال اهتزازي) وعلية يحسب العزم القطبي (μ) :

العزم القطبي (μ) =q (الشحنة على الذرة المكونة للرابطة) . (l) (طول الرابطة)

- أي أن التغير الدورى(الاهتزاز) بطول الرابطة (L) يؤدى لتغير بـالعزم القطبي بصورة دورية فينشا تيار كهربي متذبذب نتيجة تغير بالعزم .
- أما بالجزئي الغير قطبي (H_2) فلا يحتوى على عزم قطبي فـلا ينشـا مجال كهربي نتيجة لتمدد الرابطة ولا يحدث امتصاص .

كثافة الامتصاص Absorption Inten-sity :

تتوقف كثافة الامتصاص لحركة اهتزازية بالجزئي علـى حجـم التغـير بالعزم القطبي المرتبط بهذه الحركة والذي يتوقف على قيمة العـزم القطبـي للمجموعة المشتملة في الحركة الاهتزازية لذا فالامتصاص كبير فـي حالـة المجاميع القطبية والعكس وعموما كثافة الامتصاص لحركة اهتزازية تتناسـب طردي مع التغير في قطبية الجزئى .

طيف امتصاص الأشعة تحت الحمراء :

يلاحظ أن عدد الامتصاصات المشـاهدة عمليـا والخاصـة بالحركـات الاهتزازية لانتقال الجزئيات من مستوى الطاقة الاهتزازي الأصغـر لـلأول غير مساوي للرقم المحسوب نظريا (6 – 3N & 5 – 3N) ويرجع انخفاض عـدد الامتصاص لبعض العوامل السابق الإشارة إليها .

وحدات الجهاز (Instrumental Components) :

١-مصدر الأشعة Radiahon Source: :

يؤدي تسخين بعض المواد الصلبة لدرجة ١٥٠٠-٢٠٠٠ م إنتاج الأشعة التحت حمراء بصورة مستمرة وثابتة :

١-١-لمبة ترنست المتوهجة (Nernst glower lamp) :

وتتكون من أكاسيد بعض العناصر الأرضية النادرة في صورة أسطوانة قطرها ١-٢ مللم وطولها ٢٠ مللم تتصل أحد أطرفها ببلاتينات الرصاص لتسمح بمرور التيار الكهربي ونظرا لصغر مرور التيار على درجة حرارة الغرفة فإنه يتم تسخينها تدريجيا بمصدر حرارى خارجي لدرجة مناسبة تسمح بمرور التيار . وتعطي أشعة تحت حمراء مستمرة وثابتة في منطقة الأشعة التحت حمراء الوسطية (٤٠٠٠ : سم -١ - ٢٠٠سم -١)

١-٢-القضب المتوهج (Globar) :

قضيب من كاربيد السيليكون (Silicon Carbide) طولة ٥٠ مللم وقطرة ٠,٤ مللم ويسخن لدرجة ٣٠٠ ْم . وتعطي أشعة تحت حمراء مستمرة وثابتة بمنطقة الأشعة التحت حمراء الوسطية(٤٠٠٠ : سم -١-٢٠٠سم -١) .

١-٣-لمبة الزئبق القوسية :

ذات الضغط العالي فتنتج أشعة تحت حمراء بعيدة أقل من ٢٠٠ سم -١) نتيجة لتكون بخار الزئبق تحت ضغط عالي .

٢-وحدة التحكم في الأطوال الموجية (Wavelength Control)

حيث يستخدم المنشور أو محزوز معه مرشح لفصل الأطوال الموجية للأشعة حيث يعيب استخدام المحزوز تبعثر الأشعة ذات الرتب الضيقة الأخرى .

٣–وحدة وضع العينة (Sample compartment)

مكان وضع العينة مصمم بطريقة معينة وتمكن من قياس العينات الغازية أو السائلة أو الصلبة فهي خلية دقيقة معدنية لها نافذتان لمرور الأشعة خلال العينة وغالبا ما تصنع النوافذ من هاليدات العناصر القلوية حيث لا تمتص الأشعة التحت حمراء . تعرضها للرطوبة يؤدى إلى حدوث تغير في سطحها فلا تمر الأشعة لذا يعاد صقلها وتلميعها (polishing) ، شكل رقم (٤–١٨) :

٣–١–ولنسبة لتقدير المواد الغازية أو السائلة ذات الضغط البخاري العالي فتوضع العينة في خلية خاصة مفرغة من الهواء من زجاج البيركس طولها ١٠ سم ونوافذها من كلوريد الصوديوم .

وفي حالة التركيزات الصغيرة جدا تستخدم خلية ذات أمرار ضوئي كبير وذلك باستخدام خلية قصيرة تحتوى على عدة مرايا تعكس الأشعة الساقطة بطريقة تزيد الامرار الضوئي للحد المرغوب .

٣–٢–بالنسبة لتقدير العينات السائلة فتوضوع كمية صغيرة تتراوح بين ١– ملليجرام بين شريحتين من كلوريد الصوديوم فيتكون بينهما من العينة فيلم رقيق .

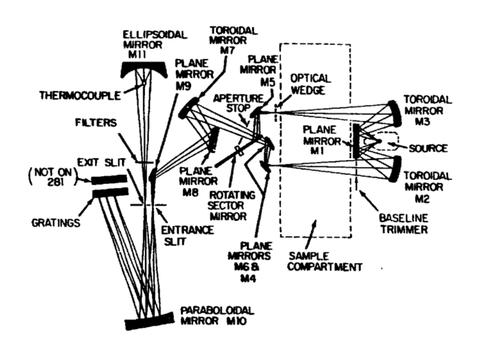
أما بالنسبة لعينات محلول مادة فتستخدم خلايا مشابهة لمثيلتها المستخدمة في حالة المادة النقية السائلة ولكن بسمك أكبر وهنا يراعى ألا يمنع وجود المذيب مرور الأشعة وألا يكون للمذيب أي تأثير على المادة (كتكون روابط هيدروجينية فهذا يؤدى لامتصاصات جديدة قد تغير موضع الامتصاصات الأصلية وتغير كثافتها وهنا تستخدم خلية مقارنة تحتوى على المذيب (في حين أن المواد السائلة لا يستخدم معها عينة مقارنة لعدم وجود مذيب) .

وفى حالة تقدير كميات صغيرة تستخدم خلايا دقيقة جدا بحجم يتراوح بين ٠,٣ ميكروليتر إلى ٤٥ ميكرولتر .

٣–أما المواد الصلبة فتكون في صورة فيلم رقيق (mull) أو قرص مضغوط (pressed disc) فيطحن من ٢–٥ ملليجرام من المادة ثم يضاف إليها نقط من زيت هيدروكربوني (Nujol) ثم تشكل كفيلم بالضغط . وهنا يكون قطر

حبيات الطحن الأقل من ٢ ميكروميتر حتى لا تتبعثر الأشعة . وقد يستبدل النيجول إذا حدث تتداخل من امتصاص مجموعة (CH) له فيستخدم بوليمر الفلوروالكلور وهنا يجرى التحليل عند ٢٥٠-٤٠٠ سم$^{-1}$.

أما فى حالة تجهيز العينة فى صورة قرص مضغوط فيتم كبسها على ضغط مرتفع فيتكون قرص منفذ للأشعة وهنا تخلط المادة المراد تقديرها مع بروميد البوتاسيوم الصلب بطاحونة كروية (ball mill) ثم تكبس تحت ضغط مرتفع ١٠٠٠-١٥٠٠ رطل / بوصة مربعة فينتج قرص منفذ للأشعة . وإذا أمتص الرطوبة فإنه تظهر امتصاصات عند ٣٤٤٨ سم$^{-1}$ و١٦٣٩ سم$^{-1}$ لامتصاص الماء.



<u>شكل رقم (٤-١٨)</u> : تخطيط يوضح وحدات إسبكتروفوتومتر الأشعة التحت حمراء

٤-وحدة قياس طاقة الأشعة الحرارية : الكاشف (Detector) :

ويمكن إستخدام أي من :

٤-١-المزدوجة الحرارية (Thermo couple) :

وتتكون من :

٤-١-١-الوصلة الأولى : وتتكون من الذهب أو البلاتنيوم ذات سعة حرارية صغيرة جدا تستقبل الأشعة فتمتصها حيث يؤدى امتصاصها لارتفاع درجة حرارتها طرديا و بدرجة تتناسب وشدة الأشعة فيتكون فرق جهد عالى عند نقطة اتصالها بالوصلة الثانية .

٤-١-٢- الوصلة الثانية : وذات سعة حرارية مرتفعة ومعزولة عن الأشعة يمكنها قياس التغير فى درجة الحرارة حتى 10^{6} درجة.

٤-٢-البولوميتر (Polometer) :

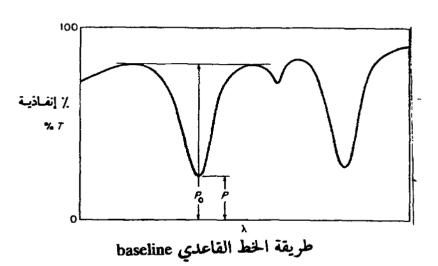
تتكون من معدن شبة موصل يظهر تغير كبير بالمقاومة كدالة للحرارة فتنخفض مقاومته بمقدار ١,٧ % درجة حرارة فى حين تزداد المقاومة بالمعدن الأخر بمقدار ٣٥ % درجة ويوضعا قريبان ويعزل إحداهما عن الطاقة الإشعاعية ويوصل الذراعين بقنطرة داتسون لقياس المقاومة .

٤-٣-الترمومتر الغازي :خلية جو لاى (Golay cell) :

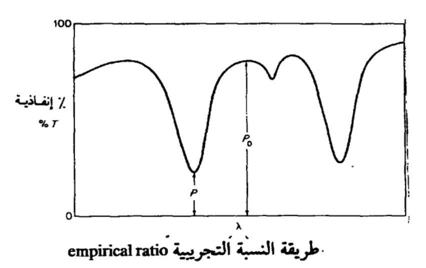
يؤدي امتصاص الغاز لطاقة الأشعة التحت الحمراء إلي ارتفاع ضغطة ويحول لإشارات كهربية تستخدم لقياس الأشعة التحت الحمراء الوسيطة والبعيدة .

٥-وحدة تسجيل الامتصاص (Recorder) :

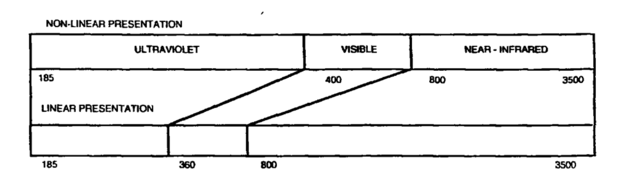
مشابهة لمثيلتها في أجهزة القياس بالأشعة الفوق بنفسيجية لتقدير الأمتصاص على الأطوال الموجية.



طريقة الخط القاعدي baseline



طريقة النسبة التجريبية empirical ratio



شكل رقم (٤-١٩) : تخطيط يوضح الإمتصاص بمنطقة الأشعة تحت الحمراء

التقدير النوعي والكمي باستخدام الأشعة تحت الحمراء

(Infra Red Qualitative and Quantitative analysis)

مما هو جدير بالذكر أن الأشعة تحت الحمراء تستخدم للتقدير الوصفي والكمي للسموم وغيرها من المركبات شأنها في ذلك شان الطرق اللونية وطرق الأشعة فوق البنفسجية ولكن يجب الأخذ في الاعتبار قلة الحساسية من تتبع مخلفات السموم ولكن قد تستخدم لتحديد نوع المركب وتحديد كميته ولذلك لها دور كبير في تحليل مستحضرات السموم خاصة مستحضرات المبيدات .

فمن المعروف أن المركبات العضوية تظهر من ٥ - ٣٠ حزمة امتصاص يعتبر موضعها من أهم خصائص الجزيئ التي يمكن بها تمييزة والتعرف على تركيبه أو نواتج تحوله وتقاس حزم الامتصاص بالميكرون وهى تمثل طول الموجة أو يحدد العدد الموجى بالسنتمتر $^{-1}$ (Cm^{1-}) وللتقدير النوعي يتم مقارنة الحزم بطيف امتصاص العينة مع طيف امتصاص المركب القياس ويلاحظ أن اكثر استخدامات الأشعة تحت الحمراء يكون فى منطقة تتراوح بين ٦٦٠ -٤٠٠٠ سم$^{-1}$ (٢,٥ - ١٥ ميكرون) .

وتوضح التطبيقات التالية مناطق التحليل الطيفي لامتصاص الأشعة تحت الحمراء لبعض المركبات ذات الروابط والمجاميع الكيميائية المختلفة :

١ - الهيدروكربونات المشبعة (Saturated hydrocarbons : Alkanes) :

وتحتوى هذه المركبات على الروابط الكيميائية كربون–كربون(C - C) و كربون -هيدروجين (C - H) فى صورة مجاميع ونظرا لأن جميع هذه المركبات تحتوى على رابطة تعاونية بين الهيدروجين والكربون فجميعها تظهر إمتصاصاً شديدا فى المنطقة المحصورة ما بين ٢٨٠٠-٣٠٠٠ ولا تعتبر هذه المنطقة ذات أهمية كبيرة فى تحديد التركيب الكيميائى لإحتواء جميع المركبات العضوية على رابطة كربون -هيدروجين (C - H) .

وجدير بالذكر وجود إمتصاصين لمجموعة أيسو بروبيل في منطقة ١٣٧٠ - ١٣٨٥ بفارق (١٥ سم$^{-1}$) فى حين أن مجموعة البيوتيلى - Tert)

Butyl) تعطى إمتصاصين من نفس المنطقة تقريبا بفارق (٣٠ ـ ٤٠ سم$^{-1}$)
(١٣٦٥ ـ ١٣٩٥) .

وجود أربعة أو أكثر من مجاميع المثيلين (CH_2) في صورة متتالية في تركيب غير حلقي يعطى امتصاص مميزا في المنطقة ما بين ٧٢٠ ـ ٧٥٠ .

المركبات المحتوية على حلقات صغيرا مثل السيكلو بروبان تعطى امتصاص فى المنطقة من ٣٠٠٠ ـ ٣١٠٠ .

٢ ـ المركبات غير المشبعة المحتوية على روابط زوجية (Alkenes) :

وتحتوى هذه المركبات على الروابط الكيميائية C = C ، C = C – H وتشترك هذه المركبات فى ظهور امتصاص مميز فى منطقة ٣٠٠٠ ـ ٣١٠٠ .

فالامتصاص الناتج عن الرابطة الزوجية C = C يظهر في المنطقة المحصورة بين ١٦٤٠ ـ ١٦٦٠ .

ومن الامتصاصات الهامة للمركبات الأوليفينية هى تلك الناتجة عن الاهتزازات الإنبعاجية للرابطة بين الهيدروجين والكربون المكون للرابطة الزوجية فى مستوى خارج مستوى الرابطة الزوجية وتظهر هذه الامتصاصات فى المنطقة المحصورة بين ٦٥٠ ـ ١٠٠٠ حيث تعطى المركبات العضوية المحتوية على المجموعة (Mono Substituted double band) امتصاص قوى عند ٩١٠ وأخر عند ٩٩٠ تبعا لنوع المجموعة المستبدلة (R) .

ويوضح شكل رقم (٤-٢٠) الامتصاصات الهامة في تلك المنطقة المحصورة بين ٦٥٠ ـ ١٠٠٠ سم$^{-1}$.

$RHC=CH_2$	$RHC=CHR_1$	$R1R_2C=CH_2$
٩٩٥-٩٨٥ سم -١	٩٨٠-٩٦٥ سم -١	٨٨٥-٨٩٥ سم -١
٩١٠-٩٠٥ سم -١		

$R_1HC=R_2H$	$R_1R_2C=R_3H$
٦٩٠ سم -١	٨٤٠-٧٩٠ سم -١

شكل رقم (٤-٢٠): الامتصاصات الخاصة بانبعاج الرابطة بين الهيدروجين والكربون غير المشبعة

وجدير بالذكر أن المركبات غير المشبعة الأحادية والثنائية الاستبدال على نفس ذرة الكربون تعطى إمتصاصات مميزة ناتجة عن (Over tone) للإمتصاصات الواقعة عند ٩١٠ لمركبات أحادية الاستبدال حيث تظهر في المنطقة بين ١٨٠٠ - ١٨٢٠ كذلك المنطقة عند ٨١٠ للمركبات ثنائية الاستبدال حيث تظهر فى المنطقة من ١٧٨٠ - ١٨٠٠ .

٣ - المركبات غير المشبعة المحتوية على روابط ثلاثية (Alkynes) :

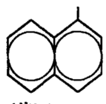
- تعطى هذه المركبات امتصاص مميز عند ٣٣٠٠ الناتج عن وجود الرابطة $C \equiv CH$ حيث يختفى هذا الامتصاص فى المركبات غير المحتوية على هيدروجين متصل مباشرة بالرابطة الثلاثية .
- أما الامتصاص الخاص بالرابطة $C \equiv C$ فيظهر عند ٢١٥٠ .
- ومن الامتصاصات الهامه للمركبات الاستيلينية تلك التي تظهر مابين ٦٠٠-٧٠٠ وتتميز أيضاً بظهور إمتصاص ضعف هذه الطاقة عند ١٢٠٠-١٤٠٠ (Over tone) .

٤-المركبات العطرية (Aromatic compounds) :

وهى تلك المركبات العضوية الداخل فى تركيبها حلقة أو أكثر من حلقات البنزين أو أى تركيب مماثل للبنزين ومن أهم الامتصاصات تلك

الناتجة عن الاهتزازات المدرية للرابطة بين الأيدروجين وحلقة البنزين وتقـــع فى المنطقة الأكبر من ٣٠٠٠

- هناك بعض الامتصاصات (٦٩٠ -٩٠٠ ، ١٦٦٧ -٢٠٠٠) تكون لـــها أهمية بالغة فى تحديد عدد المجاميع الاستبدالية على حلقة البنزين خاصـــة إذا ما كانت المجاميع المستبدلة ألكيلية مع الأخذ فى الاعتبار أن وجــــود مجاميع عالية القطبية على حلقـــة البـــنزين مثــل النيـــترو أو مشـــتقات الأحماض الكربوكسيلية كالأسترات والأميدات تؤدى إلى صعوبة تفســـير الامتصاصات السابق ذكرها بين ٦٩٠ -٩٠٠.
- بالنسبة للمركبات العطرية المتعددة الحلقـــات (النفثـــالين ٢٠٠٠ يمكـــن الاستدلال على تركيبها بنفس القواعد السابقة ذكرها لمشـــتقات البـــنزين بفرض أن كل حلقة لها امتصاصها المميز فى المنطقة المحصورة بيـــن ٧٠٠-٩٠٠ كما هو موضح بمشتقات النفثالين .



١-نافثيل

Isolated H 862 -835
2- adjacent H 805 – 835
4- adjacent H 735 – 760

٢-نافثيل

3- adjacent H 785-810
4- adjacent H 735 – 760

٥ - المركبات العضوية المحتوية على الأكسيجين :

وتضم هذه المجموعة عديد من المركبات تتشـابه فـي احتوائـها علـى عناصر الكربون والأيدروجين والأكسيجين كما هو مبين في بعض المجـاميع الفعالة المحتوية على الأكسجين :

R-O-R`	R-CO-OH	R-CHO	R-CO-R	R-OH
إيثر	كربوكسيل	ألدهيد	كيتون	كحول

CO-O (حلقي)	R-CO-O-CO-R	R-CO-OR`
لاكتون	أنذريد	أستر

٥-١-المركبات الهيدروكسيلية (Hydroxylic compounds) :

وتتضمن الكحولات والفنيولات وتحتوى على روابط الهيدروكسيل(O – H) والكربونيل (C – O) بالإضافة إلى الروابط الخاصة بالسلسلة الكربونية .

ومن الامتصاصات الهامة تلك الناتجة عن وجود رابطـة الهيدروكسـيل (O – H) وتظهر في المنطقة مـن ٣٥٩٠ - ٣٦٥٠ كمـا تظـهر مجـاميع الهيدروكسيل المرتبطة بروابط هيدروجنية امتصاص في المنطقة مـن ٢٥٠٠ - ٣٣٠٠ ومن الصعوبة تحديد ما إذا كانت مجموعة الهيدروكسيل كحوليـة أو فينولية .

وتظهر الامتصاصات الناتجة عن الرابطة بيـن الكربـون والأكسـيجين (-CO-) في المنطقة من ١٠٠٠ - ١٣٠٠ ومن الممكن الاستدلال فيها علـى نوع المركب حيث يمكن التفرقة بين الكحولات الأولى والثانية والثالثة وكذلك الفينولات حيث تتمركز الامتصاصات فى المنـاطق ١٠٥٠ -١١٠٠ -١١٥٠ - ١٢٢٠ على التوالي .

٥-٢-المركبات الإيثرية (Ethers compounds) :

وتتميز هذا المركبات بإحتوائها على أكسيجين متصـل بذرتـي الكربـون والرابطة المميزة لهذه المجموعـة هـي الرابطـة الفرديـة بيـن (-C-O-C) الأكسجين والكربون والتي قد توجد في عدة تركيبات ومن أهم امتصاصـها المميزة تلك التي تظهر في المنطقة من ١٠٠٠ - ١٣٠٠ حسب نوع الإيـثر

وبالطبع تختلف في ذلك عن الكحولات أو الفينولات التي تحتوى على نفس الرابطة في عدم ظهور الامتصاص المميز لرابطة الهيدروكسيل (O – H).وفي الايثرات المشبعة يظهر الامتصاص عند ١١٢٠ .

وتعطي الايثرات المحتوية على تركيب عطري امتصاصيين الأول خاص بالرابطة بين الأكسجين والحلقة العطرية ويظهر عند ١٢٥٠ والثاني خاص بالرابطة بين الأكسجين والمجموعة المشبعة الألكيلية ويظهر عند ١٠٤٠ .

أما الايثرات المحتوية على رابطة زوجية متصلة مباشرة بالأكسجين (Vinyl ethers) فتعطى امتصاصين الأول عند ١٢٢٠ وخاص بالرابطة (C=C-O) والثاني عند ١٠٤٠ وخاص بالرابطة (C-O) .

وفي المركبات الإيبوكسيدية (Epoxides) تظهر ثلاث امتصاصات الأولى عند ١٢٥٠ والثانية بين ٨١٥ ـ ٩٥٠ وهما متوسطا القوة أما الثالثة فهي امتصاص قوى ويظهر عند ١٥٠ ـ٨٥٠ .

أما مركبات الأسيتال والكتيال فتعطى من ٤ ـ ٥ امتصاصات في المنطقة من ١٠٢٠ ـ ١٢٠٠.

٥-٣-المركبات الكربونيلية Carbonyl

وتتميز هذه المجموعة باحتوائها على مجموعة الكربونيل (-CO-) والتي توجد في عديد من التركيبات مثل الألديهيدات والكيتونات والأحماض والأسترات وأندريدات الأحماض والأميدات وكلوريدات الأحماض وتعطى هذه المركبات الامتصاص المميز للرابطة والذي يظهر في المنطقة المحصورة بين ١٦٥٠ ـ ١٨٥٠ .

فتحتوي الألديهيدات (Aldehydes) على المجموعة (R– C =O-H) والتي تعطى امتصاص قويا عند ١٧٢٥ خاص بالرابطة C =O - إلا أنها تنتقل إلى اليمين عند اتصالها براوابط زوجية أو حلقة عطرية .

ويصعب فى العادة التفرقة بين الالديهيدات والكيتونات في هذه المنطقة ونظرا لاحتواء الالديهيدات على ذرة هيدروجين متصلة مباشرة بمجموعة الكربونيل فأنها تعطى امتصاص مميز لهذه الرابطة عند ٢٧٥٠ ـ٢٨٥٠ وهى من أهم الامتصاصات المميزة للالدميدات حيث تختفى هذه الامتصاصات في الكيتونات .

أما الكيتونات (Ketones) فتتميز هذه المجموعة من المركبات باحتوائها على مجموعة الكربونيل (CO) المتصلة بالكربون في الطرفين وتعطى هذه المجموعة امتصاص مميزا في المنطقة ١٧١٥ تنتقل أيضا لليمين بتبادل مجموعة الكربونيل على الرابطة زوجية أو حلقة بنزين وتنتقل إلى اليسار في حالة وجود مجموعة الكربونيل ضمن تركيب حلقي (أقل من ٦ ذرات كربون) وأيضا في حالة وجود ذرة كلور في الوضع ألفا لمجموعة الكربونيل .

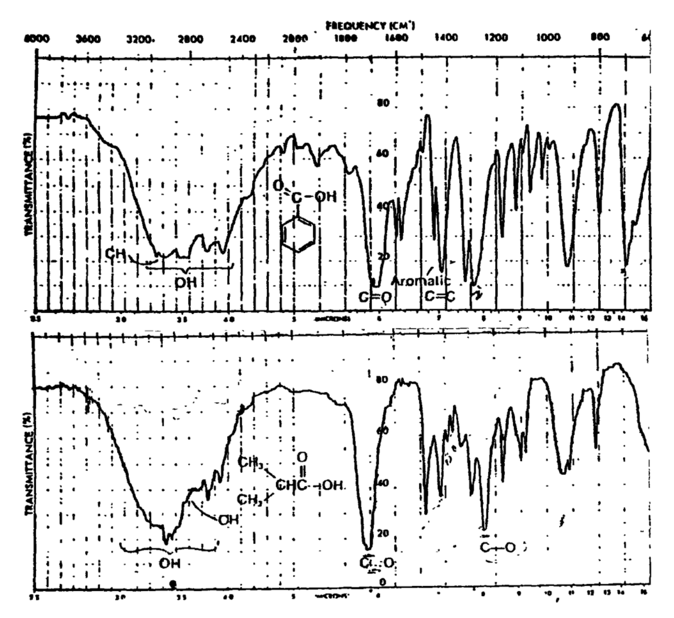
ومن الجديد بالذكر أن مجموعة الكربونيل تعطى امتصاص أخر على ضعف الطاقة السابقة (Over tone) في المنطقة من ٣٣٥٠ - ٣٥٠٠ ويمكن تميزها عن تلك الناتجة من مجموعة الهيدروكسيل بضعف امتصاصها كذلك غياب الامتصاص في المنطقة من ١٠٥٠ - ١٢٥٠الخاصة بالرابطة (-CO-) وجود مجموعة ميثايل متصلة مباشرة بالكتيون يعطى امتصاص مميز في المنطقة ١٣٧٠ .

وتتميز الأحماض الكربوكسيلية (Carboxylic acids) باحتوائها على مجموعة هيدروكسيل متصلة مباشرة بمجموعة الكربونيل فهى تعطى الامتصاصات المميزة للروابط (O-H ، C-O ، C=O).

ومن مميزات هذه المجموعة ظهور امتصاص قوى في المنطقة من ٢٤٠٠-٣٤٠٠ الخاص بمجموعة الهيدروكسيل الحامضية مصحوبة بامتصاص أخرى قوى عند ١٧٠٠-١٧٣٠ حيث يؤدى وجود هذين الامتصاصين دلالة قاطعة لوجود مجموعة الكربوكسيل .

في حالة وجود الأحماض الكربوكسيلية في صورة ملح نلاحظ إختفاء الامتصاصات الخاصة بالرابطة (O-H) , (-CO-) ويظهر بدلا منهم امتصاص قوى في منطقة ١٦٠٠ أخر بنفس القوة عند ١٤٠٠ ، شكل رقم (٤-٢١) .

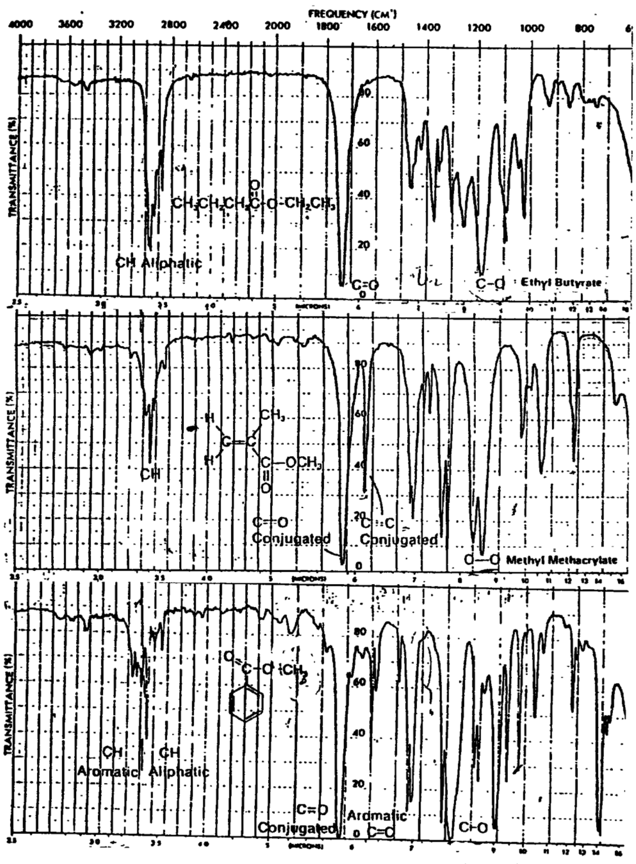
تتميز الإسترات(Esters) بإحتوائها على مجموعة الكربونيل (-CO-) بالإضافة إلى مجموعة الاثير (-C-O-C-) وبالتالى تعطى الامتصاصات المميزة لهذه الروابط حيث تظهر مجموعة الكربونيل في المنطقة ٥٣٧١ وبالاضافة إلى الامتصاصات المميزة الخاصة بمجموعة الكربونيل فأنة يمكن التفرقة بين الكتيونات والإسترات فتظهر الامتصاصات الخاصة بالرابطة الفردية بين الأكسيجين والكربون والتي تظهر في صورة امتصاص قوى في المنطقة ١٠٠٠ -١٣٠٠ وهى غير موجودة في الكيتونات .



شكل رقم (٤-٢١) : طيف إمتصاص الأحماض العضوية

وفى العادة فإن الإسترات تعطى اثنين من الامتصاصات في هذه المنطقة (١٠٠٠-١٣٠٠) الأول خاص بالرابطة ٥-٢ من الجانب الحامض وتظهر في صورة امتصاص قوى في المنطقة من١١٥٠ -١٣٠٠ أما الامتصاص الخاص بالرابطة ٥-٢ من الجانب الكحول فتظهر في صورة امتصاص ضعيف في المنطقة من١٠٠٠-١١٥٠ ، شكل رقم (٤-٢٢) .

وفى العادة يكون من الصعوبة الفرقة بين الالدهيدات والكيتونات في هذه المنطقة ونظرا لاحتواء الألديهيدات على ذرة هيدروجين متصلة مباشرة بمجموعة الكربونيل فأنها تعطى امتصاص مميز لهذه الرابطة عند ٢٧٥٠

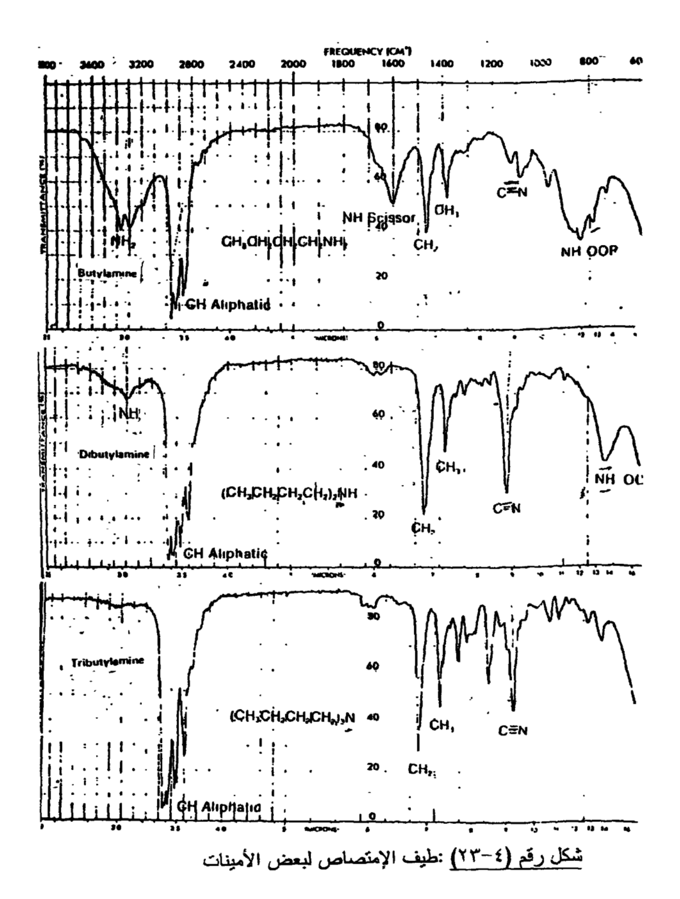


شكل رقم (٤-٢٢) : طيف إمتصاص بعض الإسترات

٢٨٥٠، وهى من أهم الامتصاصات المميزة الالدهيدات حيث تختفـــي هــذه الامتصاصات في الكيتونات .
أما أندريدات الأحماض (Acid Anhydrides) فتحتوى على مجموعتين كربونيــل ورابطة أيثرية متصلة بهما وبالتالى فإن الامتصاصـــات الخاصـــة برابطــة الكربونيل تظهر على صورة امتصاصين : الأولى فى المنطقة مــن ١٨٠٠ - ١٨٣٠ والثاني فى المنطقة من ١٧٤٠ - ١٧٧٥ أمــا امتصــاص الرابطــة (C-O-C) فتظهر فى صورة امتصاص قوى فى المنطقة من ٩٠٠ - ١٣٠٠ .
وتحتوي كلوريدات الأحماض (Acid chlorides) على رابطة بين الكلــــور ومجموعة الكربونيل مما يؤدى إلى انتقال الامتصاص الخـــاص بمجموعــة الكربونيل إلى اليسار فتظهر فى المنطقة ١٨٠٠ وفى بعض الأحيان قد يـؤدى وجود الكلور فى صورة اتصال مباشر بمجموعة الكربونيل إلى ظهور انقسام بسيط فى الامتصاص الخاص بمجموعــة الكربونيــل فــى صــورة كتــف (Shoulder) عند ١٧٤٠ .

٦-المركبات النيتروجينية (Nitrogen Compounds)

وتشمل الأمنيات والسيانيدات وإذا احتوت هذه المركبــات علــى عنصــر الأكسيجين بالإضافة إلى النيتروجين أعطت مركبات الأميدات .
فتحتوي الأمنيات (Amines) على رابطة فردية (C – N) وتعطى امتصـــاص متوسط فى المنطقة من ١٠٠٠ -١٣٥٠ وتشمل الأمنيات الأليفاتية التى تظهر فى المنطقة من ١٠٠٠ - ١٢٥٠ أما الأمنيات العطرية فتظهر فــى المنطقــة من ١٢٥٠ -١٣٥٠ ، شكل رقم (٤-٢٣) فنجد أن الأمنيات الأوليــة والتــى تحتوى على روابط بين (N – H) بالإضافــة إلــى روابــط (C – N) تعطــى امتصاصين فى المنطقة ٣٣٠٠ - ٣٥٠٠ أمـــا الأمنيـــات الثانيـــة فتعطـــى امتصاص واحد فقط فى نفس المنطقة وقد تعطى الأمنيات الأولـــى والثانيـــة امتصاص أخر عند ٨٠٠ خاص بإنبعاج الرابطة (N – H) أما الأمنيات الثالثـة لا تعطى امتصاص بهذه المنطقة لعدم احتوائها على الرابطة بين (N – H) .أما الأمنيات العطرية فيحدث للرابطـة (N – H) اهــتزازات إنبعاجيــة وتعطــى امتصاص عند ١٥٠٠ وعند ١٥٦٠ - ١٦٤٠ للأمنيات غير العطرية .



شكل رقم (٤-٢٣) :طيف الإمتصاص لبعض الأمينات

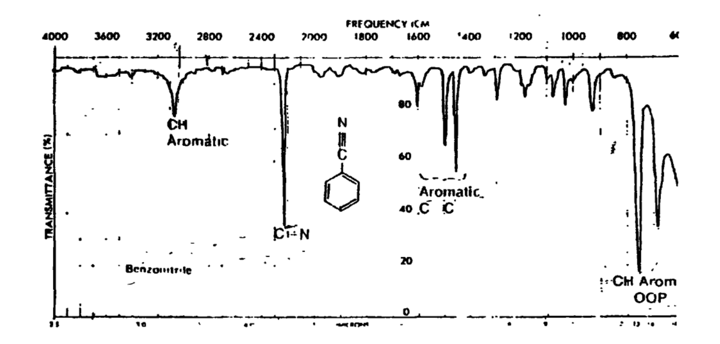
وجود الأمنيات فى وسط حامض يحولـها إلـى أمـلاح أمونيـوم وتعطـى امتصاص واسعة عند ٢٦٠٠ - ٣٣٠٠ فنجد أن أمـلاح الأمنيـات الأولـى تعطى امتصاصين عند ١٥٠٠ ، ١٦١٠ أما أملاح الأمنيات الثانيـة تعطـى امتصاص واحد عند ١٥٥٠ - ١٦١٠ أما أملاح الأمنيات الثالثة فامتصاصـها ضعيف فى تلك المنطقة .

وتعطي النتريلات(Nitriles) ومشتقاتها إمتصاص فى المنطقة المحصـورة بين ٢٠٠٠ -٢٥٠٠ واتصال مجموعة النيتريل مع رابطة زوجيـة أو حلقـة عطرية يؤدى إلى انتقال الامتصاص لليمين أي طاقة أقل . في حين تعطـى النيترلات العطرية امتصاص عند ٢٢٣٠ والنيترلات المشبعة تمتـص عنـد ٢٢٥٠ ، شكل رقم (٤-٢٤) .

المركبات المحتوية على المجموعة الفعالة إيميـن (R-C=N-O) تعطـى امتصاصا فى نفس منطقة النيترلات إلا أنها أشد قوة وأكثر اتسـاعا وتظـهر عند حوالي ٢٢٧٠ أما مشتقاتها الكبريتية (R – N = C – S) فتعطى امتصـاص شبيه فى القوة والاتساع عند ٢١٢٥ .
أما المركبات المحتوية على المجموعة الفعالة (Imine > C = N -) فتعطـى امتصاص عند منطقة بين ١٦٤٠ - ١٦٩٠.

وتعطي مركبات الأوكسيم (Oxime : C = N – OH) امتصاص عند ١٦٤٠ - ١٦٩٠ الخاص بالرابطة (C = N) وامتصاص آخر متسـع عنـد ٢٦٠٠ - ٢٦٥٠ الخاص بالرابطة بين الهيدروجين والأكسيجين .

وتعطي مركبات النيترو (Nitro Compound) امتصاصيين شديدا القوة فـى المنطقة من ١٥٠٠ - ١٦٠٠ والمنطقة من ١٣٠٠ - ١٣٩٠ ووجود مجموعة النيترو فى وضع متبادل مع رابطة زوجية أو حلقة عطرية فإن الامتصـاص الخاص بها ينتقل لليمين . أما المركبات النيترو (R-N=O) فتعطى امتصاصـا واحدا فى المنطقة من ١٥٠٠ - ١٦٠٠ .



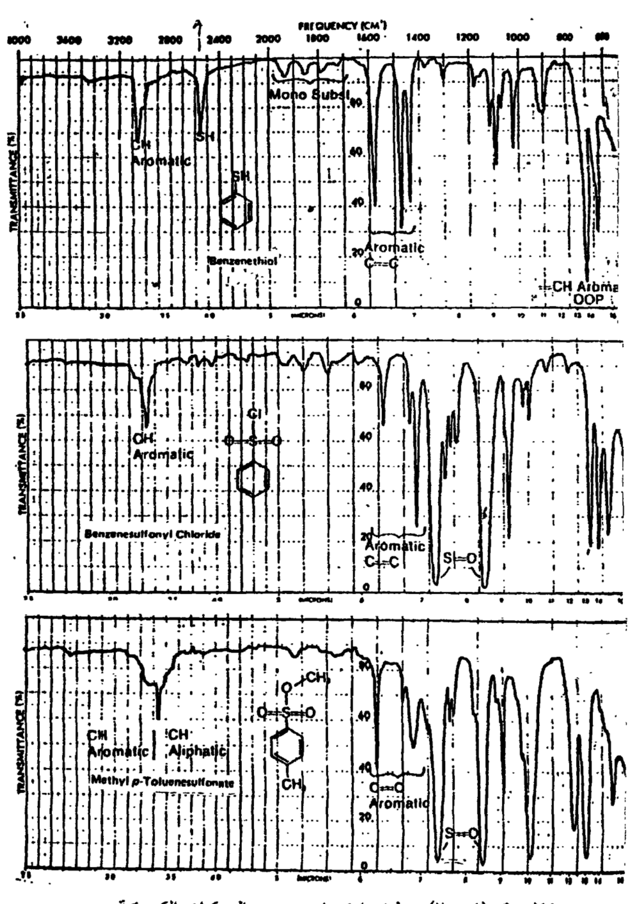
شكل رقم (٤-٢٤) : طيف إمتصاص بعض النتريلات

ونجد في مركبات الأميدات (Amides compounds) أنـــه بالإضافـــة إلـــى امتصاص مجموعة الكربونيل فنجدها تحتوى على الرابطـــة (N-C) التـــى تعطى امتصاصا عند ١٤٠٠ للأميدات الأولى أمـــا الرابطـــة (N-H) فـــى الأميدات الأولى فتظهر امتصاصيين قويان عنـــد ٣١٥٠ ، ٣٣٥٠ وتعطـــى امتصاص واحد فقط فى الأميدات الثانية عند ٣١٠٠ – ٣٥٠٠ .

٧–المركبات الكبريتية (Sulphur Compounds) :

وتشمل عديد من المجاميع الفعالة فى العادة تحتـــوى علـــى النيـــتروجين والأكسيجين والرابطة (S-H-) تمتص عند ١٥٥٠ أما مركبات السلفوكســيد (S=O<) فتمتص عند ١٠٥٠ في حين يمتص السلفون (S(O)O <) وتعطـــى امتصاصيين قويين عند ١١٥٠ وكذلك عند ١٣٠٠ ، شكل رقم (٤-٢٥) .

أما المركبات المحتوية على رابطة فردية بين الكبريت والأكســـجين تعطى امتصاصا فى المنطقة من ٦٥٠ – ١٠٠٠ .



شكل رقم (٤-٢٥) : طيف إمتصاص بعض المركبات الكبريتية

٨–المركبات الهالوجينية (Alkyl & Aryl halides) :

تعتبر منطقة الأشعة تحت الحمراء غير مجدية فى التعرف على تركيب هذه المركبات حيث يصعب تحديد نوع الهالوجين . أما بالنسبة للتقدير الكمي فشأنه شأن القواعد المتبعة فى التقدير بالطرق المرئية والأشعة فوق البنفسجية حيث يتم اختيار منحنى الكثافة الامتصاصية المرتفعة للمركب القياسي ويقاس ارتفاعه ثم يطرح منه ارتفاع البلانك ويكرر نفس الشيء للعينة ويتم اتباع طرق الحساب السابق ذكرها .

وتعترض النقاط التالية لحد ما انتشار استخدام الأشعة تحت الحمراء فى تتبع السموم بمكونات النظام البيئى:

١ - ضرورة إجراء عمليات تنظيف للعينات بدرجة عالية حتى يمكن التغلب على تداخل حزم الامتصاص للشوائب مع حزم الامتصاص الخاصة بالمبيد أو نواتج تحوله الكيميائى .

٢ -ضرورة أن تكون المذيبات المستعملة جافة خالية من الرطوبة حتى لا يذيب الماء أملاح الخلية ويجب وأن يكون ملح الخلية رائقا ولذا فإنه يفضل تجفيف المذيبات بإمرارها خلال عمود نزع الرطوبة والمعبأ بكبريتات الصوديوم اللا مائية المحببة قبل الاستعمال .

٣ - ضرورة أن تكون المذيبات المستخدمة فى منطقة الامتصاص محل التتبع والتقدير شفافة.

والجدول التالي رقم (٤-٦) : يوضح مميزات امتصاصات المجاميع الذرية المختلفة بمنطقة الأشعة تحت الحمراء .

جدول رقم (٤-٦) : إمتصاصات بعض المركبات المختلفة

Compound	Frequency (cm-1)	Intensity*
A- Hydrocarbons		
Alkanes	2975-2950	s.m. (70)
	2885-2860	m.
	1470-1430	m.
	1385-1370	s.
	~1340	w.
	1485-1445	m.
	1395-1380	s. }
	1370-1365	s. }
	1395-1385	m. }
	~1365	s. }
Alkenes		
mono-substituled	3095-3010	m.
	2975	m.
	3040-3010	m.
	1680-1620	var. (40)
	1420-1410	m.(10)-(20)
	995-985	s.(50)
	915-905	s.(110)
disubstuted		
cis-	3040-3010	m.
	1665-1635	m. (10)
	690	s. (40)
trans-	3040-3010	m.
	1675-1665	w.(2)
	1310-1295	m.
	970-960	s.(100)
	3095-3075	m.

Compound	Frequency (cm-1)	Intensity*
	895-885	s.(100)
trisubstuted	3040-3010	m.
	~1670	m.
	840-790	s.(40)
tetrasubatituted	1690-1670	w.
conjugated (dienes)	1650-1600	w.
conjugated with phenyl	~1625	s.
conjugated with theC=O group	1660-1580	s.
Alkynes		
monosubstituted	3300	s.(100)
	2140-2100	w.(5)
	630	s.
disubstuted	2260-2190	var., w.
Allenes	1970-1950	m.
	1060	m.
	850	m.
Aromatic pounds	3080-3030	var. (60)
	~1600	var. }
	~1580	var. }
	~1500	m. }
	~1450	m. }
Substitution type*		
5 neighbouring atoms H	~750	var., s. }
	~700	var., s }
4 neighbouring atoms H	~750	var., s.
3 neighbouring atoms H	~780	var., m.
2 neighbouring atoms H	~830	var., m.
1 atom H	~800	var., m.

Compound	Frequency (cm-1)	Intensity*
B. Oxygen-containing compounds		
Kelones		
saturated acyclic	1725-1705	s. (300 - 600)
saturated acyclic 6-member or more	1725-1705	s.
5-member	1750-1740	s.
4-member	1775	s.
unsaturated acyclic	1685-1665	s.
unsaturated acyclic		
6-member or more	1685-1665	s.
5-member	1724-1708	s.
unsaturated	1670-1663	s.
aryls	1700-1680	s.
diaryls	1670-1660	s.
-diketones	1730-1710	s.
-diketones (enol)	1640-1540	s.
1,4 quinone	1690-1660	s.
Aldehydes	2900-2820	w.
	2775-2700	w.
saturated aliphatic	1740-1720	s.
-unsaturated aliphatic	1705-1680	
-unsaturated aliphatic	1680-1660	s.
aromatic	1715-1695	s.
	1670-1645	s.

Compound	Frequency (cm-1)	Intensity*
Esters and lactones		
saturated acyclic	1750-1735	s.
acetates	1060-1000	w.
	1247-1236	s.
formates	1200-1180	s.
	1161-1152	m.
propionates and higher esters	1200-1163	s.
saturated acyclic -lactones	1750-1735	s.
saturated acyclic -lactones	1780-1760	s.
-lactones unsaturated	~1820	s.
vinyl ester type	1800-1770	s.
- unsaturted and aryls	1730-1717	s.
-unsaturated - lactones	1730-1717	s.
-unsaturated - lactones	1760-1740	s.
-unsaturated - lactones	1880	s.
- keto esters	1755-1740	s.
- keto esters (enol)	1735.~1650	s.
	1310-1250	s.
	1200-1100	s.

٤-الطيف (الإنبعاث) الذرى (Atomic Emission : A.E) :

ويتم تقدير العنصر عن طريق تقدير كثافة الإنبعات الذرى له وذلك مــن خلال تحويلة من الصورة المرتبطة إلى الصــورة الذريــة الحــرة بالطاقــة الحرارية ثم بمزيد من الطاقة يتحول الحالة المثـــارة (Exited state) وأثنـــاء رجوع الذرات المثارة لحالتها العادية (Ground state) تخرج طاقة الإثارة فــي صورة انبعاث إشعاعي خطى مميز لكل عنصر حيث يعبر كل شعاع (خــط) عن أحدى الانتقالات الإلكترونية .

وهنا يميز كل عنصر بواسطة :

- عدة إنتقالات إليكترونية محددة : تقدير وصفى أو نوعــى (Qualitative Analysis) .
- وتتناسب كثافة خطوط الانبعاث مع عدد ذرات كل عنصـــر : تقديـــر كمي (Quantitative Analysis) ويستخدم في ذلك جهاز فوت ومتر (Flame photometer) أو إسبكتروفوتومتر اللهب (Flame spectrophotometer) .

الوحدات المكونة للجهاز (Instrumental components) :

ويتكون الجهاز من المكونات الأساسية التالية :

١-اللهب (Flame) :

يقوم اللهب بعدة عمليات غاية في الأهمية :

- بتحويل العينة من الصورة السائلة للصورة الغازية .
- فتتفكك الروابط الكيميائية بالجزئيات وتتحول لذرات حرة .
- ثم تتحول الذرات الحرة من الحالة العاديـــة (Ground state) للحالـــة المثارة (Exited state) حيث تتوقف عملية التقدير هنا على سلوك الـــذرات المثارة وهنا تختلف وظيفته عما فى الامتصاص الذرى (والتى تتلخـــص تكوين ذرات حرة في حالتها العادية حيث يتوقف الامتصاص الذرى على سلوك الذرات فى حالتها الطبيعة).

ويجب وأن تتناسب درجة حرارة اللهب لإتمـــام الإثـــارة الإليكترونيـــة والتى تختلف من عنصر لآخر خاصة العنـــاصر الموجـــودة بمركبـــات ذات درجة انصهار مرتفعة (رغم أن ارتفاع درجة الانصهار يزيد مـــــن كثافـــة الانبعاث إلا أنها قد تؤدى لعلاقة غير خطية بين كثافة الانبعاث والتركيز) .

وتحتوى الانبعاث الضوئى الناتج من اللهب (نتيجـــــة رجـــوع الـــذرات المثارة لحالتها العادية فتفقد طاقة الإثارة فى صورة انبعاث جزيئى) على :

١ - طيف خطى (Line spectra) :

لإنتقال الإليكترونات المثارة من مدارات ذات طاقة مرتفعة لمـدرات ذات طاقة منخفضة حيث يكون كل عنصر مميز :

- بعدد معين من هذه الانتقالات (الخطوط) ذات الطول الموجى المعين.
- وكثافتها تتوقف على عدد الذرات المثارة ولذا قد تختار أحــــدى هـــذه الخطوط وتفصل عن الأخرى بمرشح (filter) أو منشور أو محزوز ثـــم يقدر تركيز العنصر بناء على كثافة هذا الشعاع .

٢–طيف شريطى (Band Spectra) :

حيث يحتوى على مجموعة الحزم كل منها تحتـــــوى علـــى مجموعـــة خطوط ذات أطوال موجية متقاربة جدا يصعب فصلها وتكون نتيجة الانتقـال الإليكتروني لأكاسيد وهيدروكسيدات عناصر المعادن الأرضية وهـــذا يشـــير إلى أن درجة حرارة اللهب غير كافية لتفكيكها لذرات حرة تعطــــى طفيـــف خطي .

٣–طيف مستمر (Continuos Radiation) :

ويكون نتيجة رجوع الذرات المثارة من مســـتوى طاقـــة غـــير كمـــي (Unquantized state) لحالتها العادية كالأشعة الناتجة من ارتباط الإليكترونـــات الحرة (e^-) مع الأيونات الموجبة حيث تحتوى الإليكترونات أثنـــاء وجودهـــا فىاللهب على عدد لإنهائي من طاقة الحركة فتنتج أشعة مستمرة تحتوى علـــى عدد كبير من الأطوال الموجية خاصة عند زيادة تركيز بعض العناصر

المعدنية باللهب ويتم استبعادها بوحدة فصل الأطوال الموجية مـــع تصحيـــح الكثافة الضوئية للأشعة نتيجة هذا التداخل حتى لاتسبب خطأ بالقياس .

٢-وحدة فصل الأطوال الموجية (Monochromator) :

وتقوم وحدة فصل الأطوال الموجية بالوظائف التالية :

- فصل أشعة الانبعاث الناتجة من ذرات مختلفة موجودة بمنطقة اللـــهب ويبقي أشعة العنصر المقدر فقط .
- كذلك يقوم بفصل خطوط الطيف الخطى الناتج مـــن ذرات العنصـــر المقدر عن الطيف الشريطي الناتج من أكاسيد وهيدروكســـيدات بعـــض المعادن الأخرى .

وإذا كانت هذه الوحدة تستخدم في ذلك مرشح ضوئي (filter) فيـــطلق على الجهاز أسم فوتومتر اللـــهب (Flame photometer) ويســتخدم لتقديـــر العناصر بإستخدام درجة حرارة منخفضة مع العناصر التاليـــة : الصوديـــوم والبوتاسيوم والماغنسيوم والكاليسوم ، وهناك تكون عدد خطوط الطيف قليلة.

أما إذا كانت هذه الوحدة تستخدم منشور (prism) أو محـــزوز (Grating) فيطلق على الجهاز أسبكتروفوتومتر اللهب (Flame Spectrophotometer) .

٣-وحدة قياس كثافة الأشعة (Detector) :

تستخدم الخلية الضوئية المركبة لتقدير طاقة الأشعة في فوتومتر اللـــهب (Flame photometer) .

أما في أجهزة اسبكتروفوتومتر اللهب (Flame Spectrophotometer) فيتـــم تكبير الإشارات الكهربية الناتجة منها على مرحلـــة أو عـــدة مراحـــل قبـــل ظهورها على وحدة التسجيل (Recording unite) ، شكل رقم (٤-٢٦) .

التقدير الكمي (Quantitative Determination) :

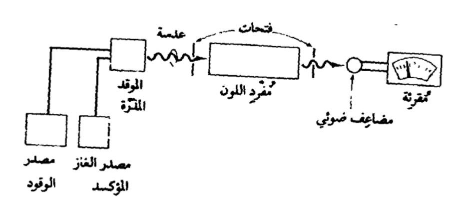
1 - تذاب المواد المراد تقديرها بمذيب مناسب غير قابل للإشتعال مع تحديـــد درجة حرارة اللهب وتحديد الطول الموجى الأمثل للتقدير .

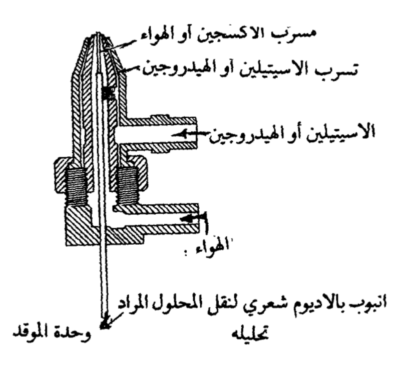
٢-تصغر (zero) الكثافة الضوئية للجهاز برش رذاذ ماء نقى علي اللهب .
٣-تضبط أقصى استجابة للكثافة الضوئية بمحلول قياسي عالي التركيز .
٤-تصحيح الأشعة المتداخلة من العناصر الأخرى باستخدام عينة مقارنة تحتوى على كل المكونات عدا العنصر المقدر ثم تطرح قيمة هذه القراء من قيمة قراءة المحلول القياسي ومحلول العينة تحت نفس الظروف .
٥-يتم رسم منحنى قياسي (Standard curue) يربط العلاقة بين التركيزات المتدرجة المختارة (التي يقع في نطاقتها قراءة العينات المقدرة) والكثافة الضوئية لهذه التركيزات.
٦-من المنحنى يتم ترجمة أي كثافة ضوئية لعينة مقدرة (مجهولة التركيز) إلى تركيز سواء بالطريقة المباشرة (direct method) وذلك من المنحنى مباشرة أو من خلال الطريقة الحساسية وهى أدق وقد سبق شرحها .

ويجب عند القياس محاولة تلافى الأخطاء التالية :
١-أخطاء ناتجة عن الجهاز (Instrumentation errors) :

- حيث يحتاج التقدير إلى لهب ثابت نتيجة معدل سريان ثابت للوقود والمادة المؤكدة .
- معدل انتقال محلول العينة لمنطقة اللهب يجب وأن يكون ثابت فتفاوته يعنى تفاوت عدد الذرات بمنطقة اللهب وهذا يعنى اختلاف وتفاوت التركيز المقدر .

٢-أخطاء ناتجة عن وجود أشعة أخرى من عناصر أخرى غير العنصر فقد تعطى أطوال موجية قريبه من أطوال العنصر المقدر وقد يصعب فصلها عن موجات العنصر بوحدة فصل الأشعة .





شكل رقم (٤-٢٦) : إسبكتروفوتومتر اللهب

٦- الامتصاص الذرى(Atomic Absorption : AA)

كما سبق وأن ذكرنا أن التحليل الطيفي للذرات (Atomic spectroscopy) يشمل ثلاث طرق هي :

- الانبعاث الفلوريني (Fluorescence Emission) .
- الإمتصاص الذري (Atomic Absorption)

ولكي تتم عملية الامتصاص الذرى : الانتقال الإليكتروني(Electron transition) يجب وأن تكون :

- طاقة أشعة الإثارة ذات الطول الموجي المناسب لعملية الانتقال مساوية للفرق في الطاقة ($\Delta G = E = \lambda v$) بين مستوى الطاقة الموجودة فيه الإليكترونات بالحالة العادية للذرة (Ground state) وإحدى مستويات الطاقة الأخرى غير المشغولة بالإليكترونات .
- أي أنها كمية الأشعة الممتصة (Absorped radiation) على الطول الحادث عنده الانتقال الإليكتروني وتزداد بزيادة عدد الذرات المارة عليها الأشعة فالعلاقة بينهما كمية (تركيز العنصر - عدد ذراته) ويمكن التوصل إليها من خلال عمل منحنى قياسي (Standard cure) لمادة قياسية تحتوى على هذا العنصر وبصورتة الكيميائية والطبيعية فمن تركيز هذا العنصر في المادة القياسية وكثافة الامتصاص يمكن رسم المنحنى والذي يربط بين الامتصاص الضوئي وعدة تركيزات متدرجة من هذا العنصر ذلك مع اختبار الطول الموجى المناسب والذي يحدث عندة أقصي امتصاص لهذا العنصر دون عناصر أخرى قد تكون موجودة معه في العينة ولهذا يجب أولا تحويل العناصر من صورتها المرتبطة بالجزئيات إلى صورتها الذرية الحرة بتكسير الروابط الكيميائية (بطاقة حرارية) فتتفرد الذرات .
- ويشكل الطيف الذرى جانب هام بالكيمياء التحليلية خاصة للعناصر القلوية حيث يعتبر مناسب لتقدير معظم الفلزات في حين يعتبر غير مناسب لتقدير اللا فلزات بطريقة مباشرة .

الوحدات المكونة لجهاز الامتصاص الذرى
(Atomic Absorption Instrumental Components)

يتكون جهاز الإمتصاص الذري من الوحدات التالية :

١-مصدر الأشعة (Radiation Source) :

تحتاج ذرات كل عنصر لإثارته ذريا إلي طيف خطى معين ومحدد يكون فيه مدى الأطوال الموجبة صغير جدا . ومصدر الأشعة هنا عبارة عن لمبة كاثود مفرغة (Hollow Cathode Lamb) خاصة بكل عنصر .

وهى أنبوبة أسطوانية ذات جدار زجاجي رقيق بمقدمتها نافذة زجاجية شفافة بداخلها الكاثود (المهبط) بشكل أسطواني مصنوع من نفس العنصر المراد تقديره ويملىء فراغ اللمبة غاز الأرجون (Argon) أو النيون (Neon) أما الأنود (المصعد) فبشكل سلك يواجه الكاثود ، شكل رقم (٤-٢٧) .

وعند التشغيل تتأين بعض جزئيات الغاز بفرق الجهد بين الكاثود والأنود لأيونات موجبة (Ar^+) تتحرك بعجلة تتوقف على قيمة فرق الجهد فتصطدم بجدار الكاثود فتنفصل منه بعض ذرات العنصر وتصطدم بدورها بأيونات الغاز فتحدث لها أثاره فتتحول إلى (EL^*) لفقد طاقتها في صورة إشعاع مميز للعنصر المتكون منه الكاثود وتعود لحالتها الأصلية مرة أخرى (EL) .

ولمبة الكاثود ذات العنصر الواحد ينتج عنها مجموعة من الخطوط الطيفية التي تنتج من جميع الانتقالات الإليكترونية المسموح بها في عنصر الكاتود ، لذا يجرى التقدير باختيار أحدى هذه الخطوط (وهو عادة شعاع ذو كثافة مرتفعة).

وقد تصنع لمبة الكاثود من خليط من العناصر (Multi element lamb) وهنا تحتوى الأشعة الناتجة على جميع الأطياف الخاصة بالعناصر المكونة للمبة ويراعى هنا اختيار الطول الموجى الخاص بالعنصر المراد تقدير تركيزه

واستبعاد باقي الأطوال الموجبة الأخرى بواسـطة وحـدة فصـل الأطـوال الموجبة (Monochromator) .

وتستخدم لمبة الكاثود لتقدير جميع العناصر الغير طيارة (Non-Volatile element) فقط وغير مناسبة للعناصر المتطايرة حيث تكون فترة حياة اللمبـة قصيرة علاوة على صغر كثافة أشعتها وفى هذه الحالة تستخدم لمبة تفريـغ كهربي بدون أقطاب كمصدر ضوئي للعناصر الطيارة (Discharge electrodless Lamb) .

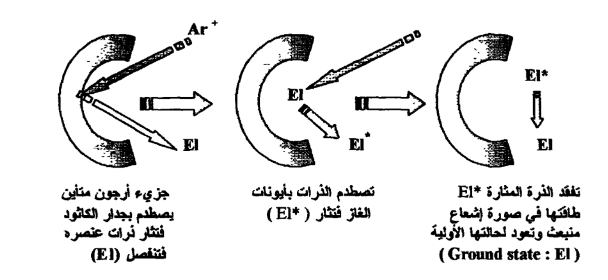
ويجب الأخذ فى الاعتبار أن وحدة اللهب (Atomizer) والتـي تتحـول فيها الصورة المرتبطة للعنصر إلى صورته الذرية تنتج أيضـا أشـعة فـى صورة طيف مستمر تؤدى لإثارة جزئيات الغاز (الوقود) كما تنتـج أيضـا طيف برجوع ذرة العنصر المثارة لحالتها العادية مرة أخرى ولتفادى تداخـل هذه الأشعة الثلاثة يجرى:

- تعديل ميكانيكي كقاطع متنـاوب (Chopper modulation) يقطـع مسـار الأشعة عدة مرات / ثانية فتتحول لأشعة متناوبة في كثافتها.
- أو يعمل تعديل إليكتروني يتراكب مع موجة أخـرى (Super imposing) تعرف بموجة التردد السمعي (Audio Frequency wave) والتعديل الإليكـتروني أما :
  - تعديل للسعة الموجبة (Amplitude modulation) : فيبقى تـردد الموجة الحاملة ثابت ويعدل في السعة الموجية وتوضع بين اللـهب والمصدر الضوئي .
  - تعديل التردد الموجـي (Frequency modulator) : وتبقـى السـعة الموجية الحاملة ثابتة ويعدل في ترددها بتراكبها مع موجة الـتردد السمعي فتكون في صورة تردد غير منتظم (متأرجح) حول القمـة الاصلية للتردد . وعدد مرات التغير / ث يعادل تردد موجة الـتردد السمعي .
  - تعديل الطول الموجى (Phase modulation)

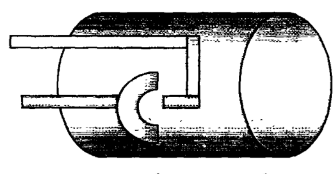
بتشغيل لمبة الكاثود بتيار مباشر نـابض (Pulsed direct current) مـع استخدام دائرة تيار متردد معدلة للترددات المتغـيرة وهنـا تسـتقبل وحـدة الكاشف نوعين من الإشعاع :

- إشعاع مستمر من اللهب .
- إشعاع غير مستمر من المصدر الضوئي (متناوب) .

وكلاهما يحول لإشارات كهربية ولكن يتم الاستجابة فقط للتيارات الكهربية المتناوبة (Alternating current) من المصدر الضوئي .



خطوات الإثارة التي تحدث بلمبة الكاثود



لمبة الكاثود المفرغة

شكل رقم (٤-٢٧) :آلية عمل لمبة الكاثود

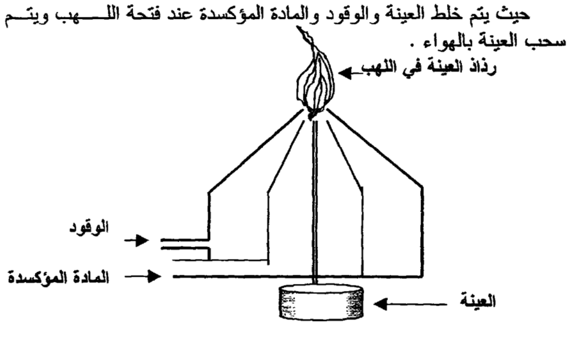
٢-وحدة تحويل العناصر للصورة الذرية (Atomizer) :

وفيها تتحول العناصر المرتبطة إلى صورتها الذرية من خـــلال حـرق المادة برشها في صورة رذاذ دقيق في اللهب الناتج من احـــتراق الاسـتيلين والهواء كمادة مؤكسدة وهنا تعمل حرارة اللهب على تكسير الروابط فتنفـــرد الذرات منشرة بمنطقة اللهب وتمتص أشعة المصدر الضوئي والتي لها طاقـة أنتقال إليكتروني مساوي لطاقة فوتون الأشعة المارة على اللهب وهنا تظـــهر أهمية اختيار الطول الموجى المناسب للعنصر.

ويوجد نوعان من وحدات الاحتراق :

٢-١-وحدة احتراق عادى (Consumption burner) :

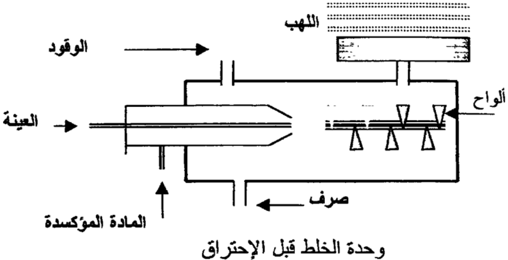
حيث يتم خلط العينة والوقود والمادة المؤكسدة عند فتحة اللـــهب ويتـم سحب العينة بالهواء .



وحدة إحتراق عادي

٢-٢-وحدة الخلط قبل الاحتراق (Premix burner) :

فترش العينة بتيار المادة المؤكسدة حيث يتم خلطها مع غـــاز الاحـتراق بألواح مستعرضة ويدفع الخليط بعد ذلك لفتحة اللهب .



وحدة الخلط قبل الإحتراق

وتحدث العمليات التالية في اللهب :

- تبخر المذيب (ماء - مذيب) تاركا جزئيات الملح جاف.
- تبخر الملح وتحوله لغاز.
- تفكك بعض أو كل الجزئيات الغازية لذرات متعادلة (تمتص الضوء) أو لشقوق .
- بعض الذرات المتعادلة تمتص طاقة اللهب فتثار أو تتأين وللاولى أهمتها في الانبعاث الذرى الطبيعي.
- قد يتحد جزء من الذرات المتعادلة أو الجذور في اللهب واعطاء مركبات غازية جديدة.

٣-وحدة فصل الأطوال الموجية (Monochromator) :

وتقوم بفصل الأشعة ذات الطول الموجى المستخدمة في التقدير عن باقي أشعة المصدر التي تمر من فتحة الدخول (Entrance slit) حيث تنعكس على مرآه لمخروز وتنعكس على سطحه أكثر تفرقا ثم تنعكس لمرأة أخرى لفتحة الخروج (Exite slit) .

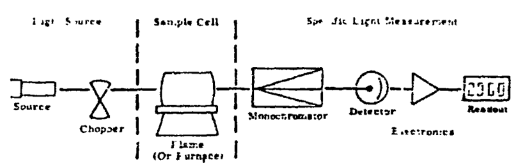
وعلية يقوم المحروز بالسماح لطول موجي معين أما الذي يحدد عدد الأطوال الموجية فهي فتحة الخروج وهناك نوعان من واحدات الفصل :

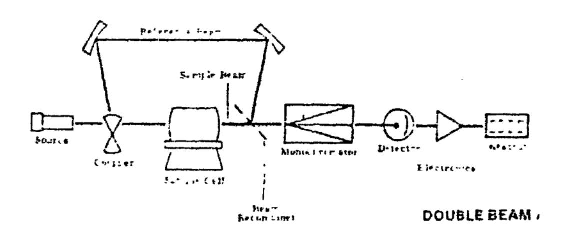
٣-١-وحدة تعمل بحزمة ضوئية واحدة :

فبعد مرور الأشعة من المصدر على العينة (اللهب) توجـــه لوحــدة فصل الأطوال الموجية فتوجه الشعاع لوحدة الكاشف لتقدير طاقته .

٣-٢-وحدة تعمل بحزمين ضوئين :

فيفصل الشعاع الخارج من المصدر بفـــاصل حزمـــي (beam sptitter) فتوجهه حزمة للامتصاص بالعينة وتمر الأخرى بعيدا عن اللـــهب كحزمـــة مرجع(Reference beam) ، شكل رقم (٤-٢٨) .

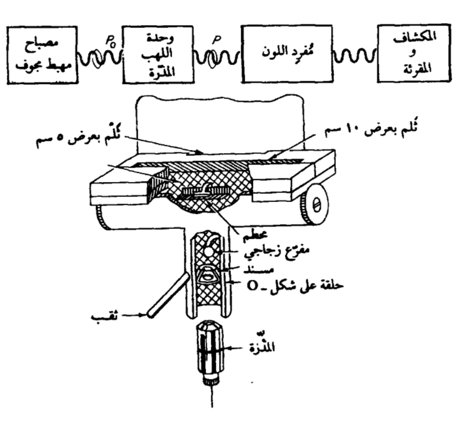




شكل رقم (٤-٢٨) : وحدة فصل الأطوال الموجية

٤-وحدة قياس الأشعة (Detector) :

وهى خلية ضوئية مركبة لتحويل الطاقة الإشعاعية لإشارات كهربية تسجل على لوحدة القياس بصورة امتصاص (Absorption) أو بصورة إمرار ضوئي (Transmission) ثم تكبر وتضبط الإشارة الخارجة من أجهزة الامتصاص ذات الحزمة الوحدة (بحيث يكون المؤشر في لوحة القياس على أقصى انحراف أي أقصى كثافة ضوئية) أما بالأجهزة ذات الحزمتين فتكبر الأشعة وتفصل لقناة أو دائرة نقل كهربي خاصة بأشعة العينة وأخرى خاصة بأشعة المرجع حيث يتم خفض جهدها بسلك إنزلاق (slide wire) حتى تعادل الجهد الناتج من العينة ويكون الفرقة في الجهد بين الحزمتين هو الامتصاص المعبر عن تركيز العنصر والشكل التالي رقم (٤-٢٩) يوضح الوحدات المكونة للجهاز :



شكل رقم (٤-٢٩) : تخطيط يوضح جهاز الإمتصاص الذري

التداخلات في الامتصاص والتحكم فيها :

تظهر بأجهزة الامتصاص الذرى عدة تتداخلات (Interference) للتفاعلات الحادثة بمنطقة اللهب والتى تؤدى لخطأ كبير في القياس مما يستدعى معه ضبط ظروف تشغيل الجهاز لتقليلها لأقل ما يمكن .

وتحدث بمنطقة اللهب التفاعلات التالية :

- تحويل العينة لرذاذ .
- وتحويل مذيب العينة للصورة الصلبة (desolvation) .
- وتحويل المركب من الصورة الصلبة للسائلة (Liquefaction) .
- ثم تحويل المركب للصورة الغازية (Vaporization) وبالتالي تحويل جزئياتة لذرات غازية متعادلة (Atomization) ثم إثارتها (Excitation) .

وتحدث هذه التدخلات بسبب :

- تداخل بين مادة الترابط. (Matrix Interference) :

وينتج لاختلاف الخواص الطبيعية كالتوتر واللزوجة لمحلول المادة ومحلول المادة القياسية مما يؤدى لاختلاف معدل التحويل لرذاذ بكليهما وهو ما يؤدى بدوره لاختلاف عدد الذرات الموجودة في المسار الضوئي بينهما فيؤدى لإنحراف ضوئي بين العينة والمادة القياسية .

- تداخل تأينى(Ionization Interference) :

فارتفاع حرارة اللهب لاتقف عند حد تكوين الذرات الحرة بل تتعداها إلى إثارة الذرات (الإليكترونات) فقد تزال وتتكون بذلك ذرات أيونية فتنخفض بذلك عدد الذرات الموجودة وينخفض بدورة معدل الامتصاص (أي ينخفض في النهاية التركيز المقدر عن الفعلي) وتعالج هذه الحالة بإضافة عنصر سهل التأين كمحلول الصوديوم أو البوتاسيوم فيتأين ويعطى عدد كبير من الإليكترونات الحرة فتثبط تأين ذرات العنصر المقدر .

- تتداخل طيفي (Spectral Interference):

ويحدث لتساوى الطول الموجى الذي يتم عنده امتصاص العنصـــر مـــع الطول الموجى للانبعاث الذرى لعنصر أخر بالعينة أو شوائب العنصر نفســه وهذا نادر ما يحدث فالطيف خطى ومدى أطواله لا تتعدى ٠,٠٠٢ نانوميتر.

وقد يرجع التداخل الطيفي لعدم تحول ذرات المركب كلها فالجزئيـــات تمتص الأشعة في مدى واسع من الأطوال الموجية بينما المركبـــات الصلبـــة تبعثر الأشعة فيظهر امتصاص جانبي (Back ground Absorption) وهنا يجـــب تقديره وطرحه من الامتصاص الذرى .

وقد يرجع التداخل لوجود العنصر بصـــورة أكاســيد وهيدروكســيدات جزيئية فيبعثا حزم قريبة قد تؤدى إلى تتداخل حاد عالي خاصة مع ارتفـــاع التركيز.

- تتداخل كيميائي (Chemical Interference):

وذلك نتيجة عدم التحول الكامل للعنصر إلى ذرات ، فتوجد بعـــض الجزئيات تمتص الأشعة بمدى واسع من الأطوال الموجية.

أو لإتحاد العنصر المقاس مع فلزات أخرى كشوائب أو أنيونات باللــهب فتؤثر على إنتاج الذرات المتعادلة الممتصة للأشعة الضوئيـــة فتتـــأثر بذلـــك درجة امتصاصها فتقل مثال ذلك تفاعل الفوسفات أو الماغنسيوم المقدر مـــع الكالسيوم أو الألومنيوم وينتج بينهما معقدات تؤثر علـــى تقديـــر الفوســـفات والماغنسيوم وهنا تضاف اللانثانم أو السترونيوم فتمنع تفاعل الكالسيوم مــــع الفوسفات المقدر أو تضاف الإديتا كمادة مخلبية تمنع تفاعله مع الفوسفات فـــي اللهب فتتحرر ذرات الكالسيوم بعد ذلك .

كذلك فوجود مواد حامضة بمنطقة اللهب تخفض الامتصاص أو الانبعـاث للعنصر المقاس خاصة مع محاليل الفلزات التي تكون أكاســـيد فـــي اللـــهب لتأثرها بدرجة الحامضية لذا يجب وأن تكون للعينة والعينة المرجـــح نفـــس درجة أس أيون الهيدروجين (pH) . ولهذا ينصح باستخدام لهب عالي مثـــل أكسيد النتروز والاسيتيلين لإزالة التداخلات الكيميائية دون الحاجة لإضافـــة مثل المركبات السابقة.

طريقة القياس:

١-يحدد الطول الموجي الأمثل باستخدام لمبة الكاثود المناسبة .

٢-تحدد درجة الحرارة المناسبة والمتوقف عليها الصورة الكيميائية للعنصر من خلال تحديد نوعية الوقود والمادة المؤكسدة.

٣-تحضير محلول قياس مناسب التركيز للعنصر المقدر مع مراعاة تقارب لزوجتة مع الزوجة العينة لمنع التداخل .

٤-عمل المنحنى القياس باستخدام عدة تركيزات متدرجة ٢ ،٤،٦،٨،١٠ بحيث يكون مدى امتصاصها من صفر إلى ٨٠ % .

٥-يضبط الجهاز على صفر بالماء المقطر.

٦-يقدر الامتصاص للتركيزات المختلفة للمنحنى ثم يرسم ثم تقدير محاليل العينات على نفس الظروف.

٧-يمكن تقوية (Fortification) للعينة خاصة الموجودة في حالة تتداخل (لزوجة) وهو ما يسمى بتقدير التركيز بالإضافة القياسية حيث تقدير الامتصاص لمخلوط العينة والمادة القياسية السابق تقديرها.

والجدول التالي (٤-٧) يوضح الظروف القياسية لامتصاص وتقدير بعض العناصر بجهاز الامتصاص الذرى.

جدول رقم (٤-٧) : الظروف القياسية لإمتصاص وتقدير بعض العناصر بجهاز الامتصاص الذري

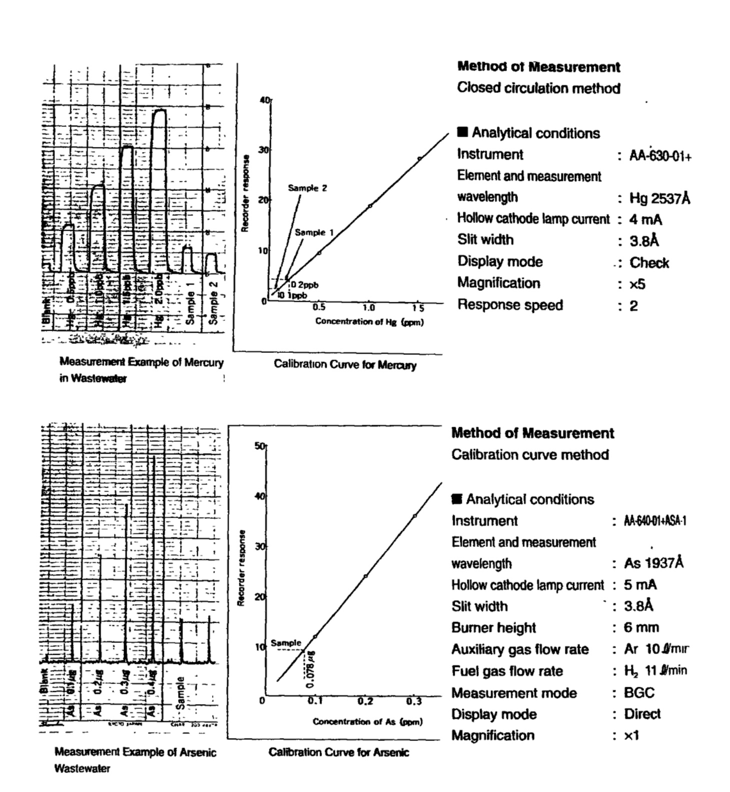
.EMENT	λ(nm)	SBW (nm)	FLAME GASES	SENS. CHECK(a)	EMENT	λ(nm)	SBW (nm)	FLAME GASES	SENS. CHECK(a)
Ag	328.1	0.7	A-Ac	3	Nd	463.4	0.14	N-Ac	500(b)
Al	309.3	0.7	N-Ac	45(b)	Ni	232.0	0.2	A-Ac	7
As	193.7	0.7	A-Ac	40	Os	290.9	0.2	N-Ac	45
As	193.7	0.7	N-Ac	45	P	213.6	0.2	N-Ac	15000
As	193.7	0.7	Ar-H	7	Pb	283.3	0.7	A-Ac	25
Au	242.8	0.7	A-Ac	12	Pd	247.6	0.2	A-Ac	12
B	249.7	0.7	N-Ac	2000	Pr	495.1	0.14	N-Ac	2500(b)
Ba	553.6	0.2	N-Ac	20(b)	Pt	265.9	0.7	A-Ac	90
Ba	553.6	0.2	A-Ac	225(b)	Rb	780.0	4.0	A-Ac	5(b)
Be	234.9	0.7	N-Ac	1.2	Re	346.0	0.2	N-Ac	700
Bi	223.1	0.2	A-Ac	18	Rh	343.5	0.2	A-Ac	15
Ca	422.7	0.7	A-Ac	3.5	Ru	349.9	0.2	A-Ac	25
Ca	422.7	0.7	N-Ac	2.5(b)	Sb	217.6	0.2	A-Ac	25
Cd	228.8	0.7	A-Ac	1.2	Sc	391.2	0.2	N-Ac	20(b
Co	240.7	0.2	A-Ac	7	Se	196.0	2.0	A-Ac	25
Cr	357.9	0.7	A-Ac	4	Se	196.0	2.0	Ar-H	12
Cs	852.1	4.0	A-Ac	15(b)	Si	251.6	0.2	N-Ac	85
Cu	324.7	0.7	A-Ac	4	Sm	429.7	0.14	N-Ac	400(b)
Dy	421.2	0.2	N-Ac	40(b)	Sn	286.3	0.7	N-Ac	200
Er	400.8	0.2	N-Ac	45(b)	Sn	286.3	0.7	A-Ac	180
Eu	459.4	0.14	N-Ac	25(b)	Sn	286.3	0.7	A-H	70
Fe	248.3	0.2	A-Ac	6	Sr	460.7	0.14	A-Ac	6(b.
Ga	287.4	0.7	N-Ac	65	Sr	460.7	0.14	N-Ac	4(b.
Gd	407.9	0.2	N-Ac	800(b)	Ta	271.5	0.2	N-Ac	725
Ge	265.1	0.2	N-Ac	110	Tb	432.6	0.14	N-Ac	400(b
Hf	286.6	0.2	N-Ac	700(c)	Tc	261.5	0.2	A-Ac	120
Hg	253.6	0.7	A-Ac	350	Te	214.3	0.2	A-Ac	45
Ho	410.4	0.2	N-Ac	50(b)	Ti	365.3	0.2	N-Ac	85
In	303.9	0.7	A-Ac	35	Tl	276.8	0.7	A-Ac	25
Ir	264.0	0.2	A-Ac	400	Tm	371.8	0.7	N-Ac	16(b
K	766.5	4.0	A-Ac	1.8	U	358.5	0.2	N-Ac	2300(b
La	550.1	0.2	N-Ac	2000(b)	V	318.4	0.7	N-Ac	75
Li	670.8	1.4	A-Ac	1.5	W	255.1	0.2	N-Ac	500
Lu	336.0	0.2	N-Ac	300(b)	Y	410.2	0.2	N-Ac	85(b
Mg	285.2	0.7	A-Ac	0.3	Yb	398.8	0.2	N-Ac	5(b
Mn	279.5	0.2	A-Ac	2.5	Zn	213.9	0.7	A-Ac	0.8
Mo	313.3	0.7	N-Ac	25	Zr	360.1	0.2	N-Ac	475
Mo	313.3	0.7	A-Ac	40					
Na	589.0	0.14	A-Ac	0.7					
Nb	334.4	0.2	N-Ac	1700(b)					

A-Ac = Air-Acetylene
N-Ac = Nitrous Oxide-Acetylene
Ar-H = Argon-Hydrogen-Entrained Air
A-H = Air-Hydrogen

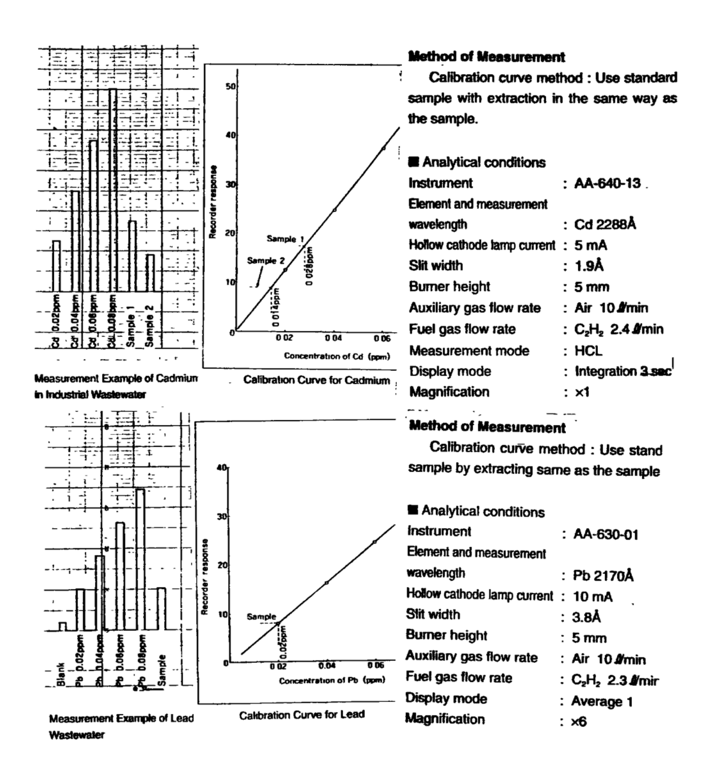
ويجب عند القياس أخذ هذه النقاط في الاعتبار :

١ - يجب وأن تتناسب درجة حرارة اللهب واتمام عملية التفكيـــك للروابـــط الكيميائية .
٢ - يجب أن يكون اللهب ثابت ومستمر حيث أن اختلاف معدلة يعنى تفـاوت عدد ذرات العنصر بمنطقة اللهب أي تفاوت التركيز وهو مـــا يعنـــى خطـــأ الجهاز.
٣ - يفضل لهب (الهواء والأسيتيلين) لمعظم الفلزات ولـــو أن الموليبدينـــم والقصدير يتأثر به والجدول السابق يوضح أنظمة غازات اللهب المفضلة فـــي تقدير العناصر.
٤ - مراعاة التداخلات التي قد تحدث بمنطقة اللهب.
٥ - مراعاة ضبط الطول الموجى للعنصر المقاس.

وفيما يلي بعض التطبيقات لتقدير بعض المعادن الثقيلة باســـتخدام طيـــف الامتصاص الذرى لعينات من الماء (ماء شرب - ماء صرف - ماء صرف صناعي) ، شكل رقم (٤-٣٠).



شكل رقم (٤-٣٠) : تطبيقات لقياس بعض المعادن باستخدام طيف الامتصاص الذري



تابع شكل رقم (٤-٣٠) : تطبيقات لقياس بعض المعادن باستخدام طيف الامتصاص الذري

٧-الوميض الجزيئي : الفلوروسنس والفوسفورسنس
(Molecular Luminescence : Fluorescence & Phosphorescence)

بعد إمتصاص بعض الجزيئات ذات تركيبة معينة لطاقة الفوتون [ولمـــدة ١٠ -١٥ ثانية ولعدة ثوان وهي المدة اللازمة لإنتقال الإليكترونات من الحالـــة العادية للحالة المثارة] وغالبا ما تكون طاقة الفوتون أشعة بنفســـيجية حيـــث ينتقل الجزيء من الحالة العادية (Ground state) إلي الحالة الفردية المثـــارة (Excited Single state : S_1) والتي ما زال فيها الجزيء محتوي علي عدد زوجـــي من الإليكترونات وبحركة مغزلية .

ويبقي الجزيء مثار لمدة ١٠ -٩ - ١٠ -٦ ثانية يحدث خلالها التفلـــور أو التفسفر وعلي أطوال موجية أعلي من الأشعة الفوق بنفسيجية وفـــي منطقـــة الأشعة المرئية وحتي منطقة الأشعة الحمراء (٣٨٠-٧٥٠ نانوميتر) ولـــهذا يصعب للعين ملاحظته بعد إزالة مصدر الأشعة ثم يبدأ يبدأ بفقد بعض مـــن طاقة الإهتزاز فيهبط إلي مستوي طاقة إهتزازي أدني بالحالة المثـــارة فـــي صورة عمليات سريعة وبخطوات كمية نتيجة تصادم الجزيئـــات بالجزيئـــات المحيطة كجزيئات المذيب .

وهنا يزيل كل تصادم من التصادمات طاقـــة مســـتوي إهـــتزازي واحـــد وتسمي بعملية الإسترخاء (Vibrational relaxation : ΔE_2) حيث يزيد الفقـــد فـــي الطاقة خلال هذه المرحلة بزيادة درجة الحرارة ولزوجـــة وقطبيـــة المذيـــب المستخدم (الصورة المتأينة) .

وبمجرد إسترخاء الجزيء المثار بمستوي طاقة إهتزازي أدنـــي بالحالـــة المثارة حيث يتم الإستمرار في فقد طاقة الإثارة بصورة ، شـــكل رقـــم (٤-٣١) :

- حرارة : عن طريق التحول الداخلي(Internal conversion : ΔE_3): وذلك نتيجة تداخل بين مستويات الطاقة الإهتزازية بالحالة المثارة ومستويات الطاقة بالحالة الجزيئية .

أما في في حالة عدم حدوث تداخل بينهما وإنفصالهما بفجوة صغيرة (Gap) وباتساع عدة مستويات فينتقل الجزيء بميكانيكية القمع .

- فوتونات مرئية فوق بنفسيجية تسمي بالفلورسنس (Fluorescence : ΔE_5) وذلك عندما يكون الإنتقال بميكانيكية القمع غير ممكنة أو أن الفرق في الطاقة بين المستويين كبير .

وقد يحدث عبور داخلي (Internal crossing : ΔE_6) وذلك بإنتقال الجــزيء خلال مستويات الطاقة الإهتزازية من الحالة الفردية المثــارة (S_1) للثلاثيــة المثارة (Triplet excitation state : T_1) ويفقد الجزيء طاقته في صورة حـــرارة ويتغير اتجاه الحرمة المغزلية لإليكتروناته .

وبعودة الجزيء المثار من الحالة الثلاثية المثارة (T_1) إلي الحالة العاديــة (G) خلال مستويات طاقة تختلف في رقم الكوانتم المغزلي بفقد طاقته فـــي صورة إشعاع فلورسنس مرئي بنفسجي (Phosphorescence : ΔE_7) وتكــون فترة حياته أطول فتبلغ عدة ثواني لذا يلاحظ بالعين المجردة بعد إزالة مصدر الأشعة .

وتصل دقة القياس في هذه الطريقة لأقل من مول لإعتمادها علــي الطــول الموجي لأشعة الإثارة والطول الموجي لأشعة الفلورسنس (بينما في طـــرق الإمتصاص تعتمد علي الطول الموجي لأشعة الإثارة فقط . فقد تمتص عـــدة مواد علي نفس الطول الموجي ولكن ليس من الضروري أن يحدثها إنبعـــاث فلورسنسي علي نفس الطول الموجي) .

ويلاحظ أنه :

- قد يختفي أشعاع الفلورسنس والفوسفورسنس كلية لإنخفاض التركـــيز للجزيئات المثارة لدخولها في معقد مع وحدات كيميائية موجودة بالمحلول فهي تتناسب طرديا مع الجزيئات الممتصة للأشعة .
- في عملية الإمتصاص يحدث فيها إنتقال من الحالة الإليكترونية العادية لإحدي مستويات الطاقة المثارة فتظهر حزم بطيف الإمتصاص .

- أما في عملية الإنبعاث يحدث فيها إنتقال من الحالة الإليكترونية المثارة الفردية لإحدي مستويات الطاقة العادية ونادرا ما يظهر أكثر من حزمة للجزيء بطيف الإمتصاص .
- شدة أشعة الفلورسنس (I_f) =

K (الفوتونات المقاسة/الفوتونات المنبعثة)φ_f [كثافة الفلورسنس (نسبة الفوتونات المنبعثة/ث /نسبة الفوتونات الممتصة/ث)] . (I-L)

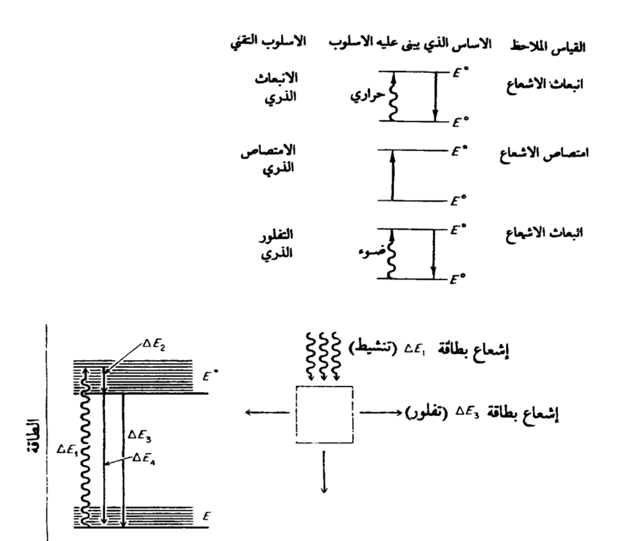
حيث : φ_f غالبا أقل من ١ لذا فالمركبات معظمها غير فلورسنسية .

- قيمة طاقة الطول الموجي للتنشيط أكبر من مثيلتها للفلورة حيث يلاحظ أن بعض الجزيئات تتفلور عند الطول الموجي للتنشيط وتسمي بالرنين الفلوري (Fluorescence resonance) .
- تتناسب أشعة الفلورسنس مع الفرق في الطاقة بين مستوي الطاقة في الحالة العادية ومستوي الطاقة في الحالة الفردية المثارة (S_1) بينما تتناسب أشعة الفوسفورسنس مع الفرق في الطاقة بين مستوي الطاقة في الحالة العادية ومستوي الطاقة في الحالة الثلاثية المثارة (T_1) . مع الأخذ في الإعتبار أن تردد الفوسفورسنس أقل من الفلورسنس .
- وتستخدم الفلورسنس في تقدير المركبات العضوية المحتوية علي روابط هيدروجينية متبادلة أو مع المركبات الغير عضوية من خلال تفاعلها مع جواهر كشافة فتعطي مشتقات فلورسية .

أما الوميض الكيميائي (Chemical luminescence) فهو أحدي أنواع الوميض للجزيئات ذات الطاقة الناتجة عن التفاعل الكيماوي في الحالة المثارة حيث تتم إثارة الجزيء لتزوده بطاقة ناتجة خلال التفاعل الكيماوي وهو ما يشاهد في فراشة النار والفراشة المضيئة (Fire fly) كوميض متوهج والذي تمثله المعادلة التالية :

$$LH2 \longleftrightarrow LH2\text{-}AMP \longrightarrow Products + AMP$$

نواتج مصحوبة بإنبعاثات
ضوئية(Photoemission)
تتناسب طرديا وكمية الطاقة
(أدينوسين تراي فوسفات (ATP)



شكل رقم (٤-٣١) : حالات فقد الطاقة للجزيء المثار

ولهذا التفاعل أهميته في دراسة التمثيل كما يمكن إستغلال فكرته في الكشف عن السموم والملوثات البيئية خاصة أول أكسيد النيتروجين (NO) كملوث للهواء الجوي في وجود الأوزون كما بالمعادلة التالية والعقاقير والكائنات الدقيقة بالأغذية الآدمية أو الحيوانية (العلف) :

$$NO + O_3 \longrightarrow NO_2^* + O_2$$

$$NO_2^* \longrightarrow NO_2 + h\upsilon$$

الوحدات الأساسية المكونة للجهاز :

يتكون جهاز الفلورميتر وجهاز الاسبكتروفلورميتر من الوحدات التاليـــة ، شكل رقم (٤-٣١) :

١-مصدر الأشعة :

١-١- لمبة زينون (Xenon arc lamb) :

وتعطي أشعة مستمرة ذات طول موجي ٢٥٠-٨٠٠ نانوميتر وأكبر كثافـة لها عند ٤٧٠ نانوميتر.

١-٢-لمبة زئبق (Mercury arc lamb) :

وتعطي طيف خطي كثافته مرتفعة عند الأطوال الموجية التالية :

٣٦٥, ٣٩٨ , ٤٣٦, ٥٤٦, ٥٩٧, ٦٩٦, ٧٣٤ .

٢-وحدة فصل الأطوال الموجية :

- في حالة أجهزة الفلورميتر يستخدم :

مرشح أولي (Primary filter) يسمح بمرور الأطوال الموجية المشتركة في إثارة جزيئات المركب فقط .

مرشح ثانوي(Secondary filter) : يستخدم محزوز لفصل أشعة الإثارة وأشعة الفلورسنس مع لمبة زينون .

٣-خلية وضع العينة (Cell compartment) :

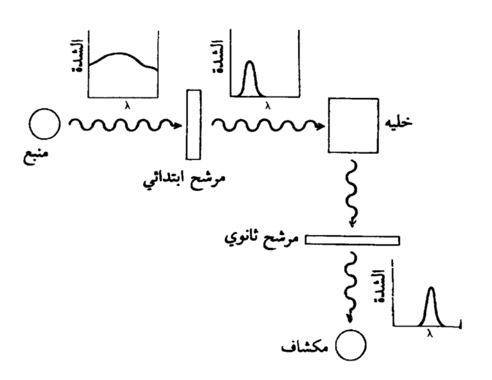
خلايا مستطيلة من الزجاج أو السيليكا توضع بحجرة لها نافذتان إحداهمـا لدخول الأشعة والأخرى عمودية عليها لخروج أشعة الفلوروســـنس والتـي تنبعث في جميع الأتجاهات من داخل الجزيء وترى من أي اتجاه لذا فأبسـط وضع لمصدر الإثارة يكون عمودي علي الكاشف .

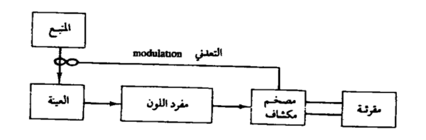
٤-وحدة قياس الأشعة (Detector) :

وهنا تستخدم الخلايا الضوئية المركبة لضعف أشعة الفلورسنس حيث تقـوم بتحويلها إلي تيار كهربي يقاس بالجلفانومتر ويتـم تكبـيرة لإمكـان قيـاس الإشارات الكهربية الضعيفة .

٥–وحدة تسجيل النتائج (Recorder unite) :
حيث تعرض النتائج علي لوحة تسجيل (meter) أو علي شاشة ضوئية (Oscilloscope) أو في صورة طيف فلوروسيني كرسم بياني ذو بعدين : الطول الموجي (λ) و الكثافة .

وقد يزود جهاز الإسبكتروفوتومتر بحاجز دوار (Rotating shutter) : فوسفورسكوب (Phosphorscope) حيث يعطي فرق في الزمن بين إثارة العينة وبين الوميض الفوسفوروسنس . أو تستخدم طريقة النبض كمصدر للإشعاع فتخرج الأشعة في صورة نبضات م يقاس البريق الفوسفوري لها وهنا توضع الخلية في نيتروجين سائل ويكون مذيب العينة هو إيثانول : بنتات : إيثير بترولي بنسبة ٢ : ٥ : ٥ .





شكل رقم (٤-٣١) : رسم تخطيطي للوحدات المكونة لجهاز الإسبكتروفوتوميتر

٨-التشتت أو التبعثر الضوئي (Light scattering) :

عند سقوط شعاع ضوئي (Io) علي محلول عينة تحتوي علـــي دقـــائق معلقة (Suspended particles) يلاحظ تبعثر أو تشتت (Scattering) للشعاع فـــي جميع الزوايا نتيجة إنعكاس وإنكسار الأشعة علي أطح هذه الدقـــائق وتكــون شدة الشعاع الضوئي النافذ متوقفة علي كثافة وجود هذه الدقائق خلال مســـار الضوء وحجمها وطول المسار الضوئي بخلية العينة أي أن :

$$Log\ Io / I = K.L.C.$$

حيث K : ثابت التعكير (Turbidity constant) ويتناسب مع شكل وحجم الدقائق المنتشرة .

C : كمية الدقائق /وحدة الحجم .

L: طول مسار الضوء بخلية العينة .

فعندما تكون أبعاد الدقائق هي قيمة الطول الموجي للضـــوء الســـاقط أو أقل يحدث التشتت وهو ما يسمي بتأثير دنـــدال (Dyndall effect) كمـــا فـــي الجزيئات الغروية (١ نانوميتر : ١ ميكروميتر) وهنا تتناسب قوة التشـــتت عكسيا مع القوة الرابعة للطول الموجي : $I\ s\ \alpha\ 1/\lambda$ وهذا سبب تشتت الضوء الأزرق بدرجة أكبر من الضوء الأحمر وهو ما يفسر زرقة السماء . وعندما تكون أبعاد الدقائق المنتشرة أكبر من الطول الموجي للضوء الساقط يحدث الانعكاس .

وقوة التعكير هنا لا تعتمد النفاذية فيها علي كتلة الدقائق /وحدة الحجم أي التركيز ولكن تعتمد علي عدد الدقائق / وحدة الحجم وعليه فعند مقارنة عدة عينات معكرة فيجب وأن تكون لها نفس الحجم والتوزيع ولـهذا لا يمكن قياس كثافة دقائق مترسبة من تفاعل ترسيب مباشرة لتأثر حجمها بتركيز المواد المتفاعلة ودرجة الحرارة وأس تركيز أيون الهيدروجين والوقت وللسيطرة علي هذه المتغيرات يتم إضافة عوامل لها فاعلية سطحية (Surface activity)

لإستقرارها ومنع تكتلها ونمو دقائقها كالجليسرول و الدكسترين والصمغ العربي والجيلاتين .

ولتأثر قوة التعكير بطول الموجة للأشعة الساقطة فهنا يجب وأن يقلل الامتصاص ما أمكن ولهذا يختار الطول الموجي الذي لا يمتص عليه العينة .

وتعتمد فكرة القياس هنا علي :

- تركيز الدقائق .
- حجم وشكل : هندسية الدقائق .
- الطول الموجي للأشعة الساقطة .
- نسبة معامل انكسار الدقائق والوسط المحيط بها .

وتطبيقا لهذا يجري القياس بطريقين :

١. قياس التعكير (Turbidometry : Io / I) من خلال قياس شدة الشعاع الضوئي الساقط (Io) ثم النافذ (I) :

أي أن قوة التعكير (Turbidance) = (S) =

لو $CbK = Io / I$

حيث K : معامل التعكير وتعتمد علي حجم وشكل الدقائق المنتشرة

وتستخدم في قياس :

- كمية المواد العالقة بالمياه .
- كمية الملوحة بالمحاليل الملحية .
- الضباب (Fog) والضباب الدخاني (Smog) .
- نشاط التفاعلات الإنزيمية والناجم عن تفاعلاتها محاليل عكرة .

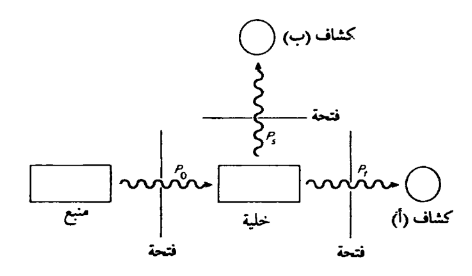
٢. التعتيم التفلوري (Nephelometry) حيث يتم قياس شدة الشعاع الضوئي النافذ والمشتت عند زاوية عمودية حيث كلما انخفضت شدته كلما زادت شدة التبعثر :

وتستخدم في :

- تقدير الأوزان الجزيئية للجزيئات الكبيرة كالبروتينات والنورنيكوتين وحمض الريبونيوكليك في اليوريا وقابلية تخثر الدم .

- تحديد نقطة النهاية في عمليات المعايرة التي يكون ناتج تفاعلها راسب تقاس درجة عكارته وتترجم النتائج من خلال منحني قياسي لتركيزات متدرجة من المادة المترسبة .

والشكل التالي رقم (٤-٣٢) يبين مكونات الجهاز .



<u>شكل رقم (٤-٣٢)</u> : جهاز قياس العكارة

الباب الخامس

التحليل الطيفي

بالتردد (الرنين) النووي المغناطيسي

التحليل الطيفي بالتردد(الرنين) النووي المغناطيسي
(Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy)

وهو أكثر طرق التحليل الطيفي فاعلية في دراسة الظواهر الخاصة بتركيب وديناميكية الجزئيات فتميز الإليكترونات وأنوية الذرات بناء علي بعض صفاتها الاستاتيكية (Static properties) كالكتلة (mass) والشحنة (charge) والتماثل الفراغي (Parity) ومن هنا زادت أهمية هذه التقنية سهولتها في تحديد التركيب الكيميائي للمركبات المختلفة . فالإليكترونات وعدد من أنوية بعض الذرات خاصية العزم المغناطيسي (Magnetic moment : μ) نتيجة حركتها المغزلية (Spinning) حول محورها وهي كمية متجهة لها اتجاه عزم مغناطيسي في الفراغ يعبر عن مستويات الطاقة الخاصة بالحركة المغزلية لهذه الجسيمات وتكون الاحتمالات المختلفة لاتجاه العزم متساوية بجميع الاتجاهات وتكون طاقة هذه الاتجاهات متساوية وتعبر عن مستوى طاقة مغزلي فردي .

وبوضع هذه الجسيمات بمجال مغناطيسي خارجي فتؤثر علي مستويات الطاقة الفردية الخاصة بالحركة المغزلية فتنقسم لقسمين:

- **مستوي يعبر عن الحركة المغزلية الناتج عنها العزم في اتجاه المجال المغناطيسي الخارجي وطاقته منخفضة بالنسبة لمستوي الطاقة الأصلي وهو المستوي الفضل للجسيم تحت هذه الظروف.**
- **مستوي يعبر عن الحركة المغزلية الناتج عنها العزم في اتجاه مضاد لاتجاه المغناطيسي الخارجي وطاقته مرتفعة بالنسبة لمستوى الطاقة الأصلي ويزداد الفرق في الطاقة بين هذه المستويات بزيادة شدة المجال المغناطيسي الخارجي.**

ونشأة هذين المستوين في وجود المجال المغناطيسي الخارجي يتيح للجسيمات إمكانية إمتصاص طاقة الأشعة الكهرومغناطيسية فتنتقل من مستوي طاقة منخفض لآخر مرتفع ويتغير اتجاه الحركة

المغزلية للجسم ويمكن الكشف عن إمتصاص الطاقة وتكبيرة كطيف خطي يسمي بإشارة الرنين (Resonance signal) . والفرق في الطاقة (ΔE) تحت تأثير مجال مغناطيسي خارجي لبروتونات الذرات يتوقف علي الظروف الإليكترونية المحيطة بالنواة والتي تحدد نوع الرابطة ونوع الذرات الأخرى المرتبطة بالنواة لذا يظهر الجزىء عدة أمتصاصات تعبر عن هذه الظروف . ودراسة طاقة وعدد الإمتصاصات لأنويه نوع واحد من الذرات بالجزىء بجود مجال مغناطيس خارجي في نطاق أشعة الراديو تسمي بالرنين النووي المغناطيسي .

ونظراً لإنتشار الهيدروجين بالمركبات العضوية فإن أكثر من ٩٠% من أبحاث الرنين النوري المغناطيسي تختص بدراسة البروتونات لذا يسمي بالرنين المغناطيسي للبروتون (Proton magnetic Resonance : PMR)

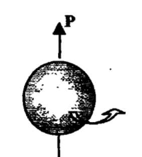
ويتوقف الفرق في الطاقة تحت تأثير مجال مغناطيسي خارجي للإليكترونات علي نوع المدار الموجودة قبل الإلكترونات والطاقة اللازمة لعمليه إنتقال الإلكترونات تكون مساوية لطاقة الأشعة القصيرة (micro wave) ودراسة الإليكترونات بهذه الطريقة تسمي بالرنين الإليكتروني المغناطيسي (Electron Magnetic Resonance :EMR) وهو محدود الاستعمال علي المركبات المحتوية علي إليكترون غير مزدوج بإحدى المدارات كالشقوق الحرة والعناصر الإنتقالية .

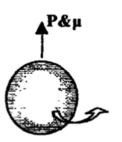
وحاصل جمع الكميات المتجهة للتحرك الزاوي (Angular momentum) نتيجة الحركة المغزلية للبروتون أو النيوترون يعطي كمية تحرك زاوي كلي لنواة الذرة (P) والذي يرتبط بعزم مغناطيسي (Magnetic moment) نتيجة شحنة النواة ويكون اتجاهه هو اتجاه كمية التحرك الزاوي للشحنة الموجبة للنواة والعكس مع الجسيمات السالبة:

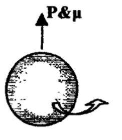
والعزم المغناطيسي (μ) =

γ (ثابت نسبة المغناطيسية لكل نواة). P(كمية التحرك الزاوي)

(وطاقة هذه الاتجاهات متساوية طالما لا يوجد مجال مغناطيسي خارجي).







حركة مغزلية لإليكترون سالب تنتج كمية تحرك زاوي (P) وعزم مغناطيسي بإتجاه مضاد لكمية التحرك الزاوي

حركة مغزلية لنواة موجبة تنتج كمية تحرك زاوي (P) وعزم مغناطيسي في نفس اتجاه كمية التحرك الزاوي

حركة مغزلية لنواة موجبة تنتج كمية تحرك زاوي (P)

ويتوقف عدد وطاقة مستويات الطاقة للأنوية الموضوعة في مجـال مغناطيسي خارجي (اتجاهات العــزم المغناطيســي) علــي الخــواص المغناطيسية للنواة وعلي شدة المجال المغناطيسي الخارجي.

كمية التحرك الزاوي (P) =

m_I(رقم الكوانتم المغناطيسي) – h(ثابت بلانك) / ٢ π = $h.\ m_I$

العزم المغناطيسي (μ) = $m_I.\ h.\ \gamma$ ...

حيث : $m_I = I\ .\ I-1\ .\ I-2$

I : هي رقم الكوانتم المغزلي للنواة ويأخذ القيم صفـو ، ½ ، ١، ٣/٢ ، ٢ فالقيم المحتملة لرقم الكوانتم المغناطيسي (2I+1)

فإذا كانت $I = 1$ إذن $m_I = I\ .\ I-1\ .\ I-2$

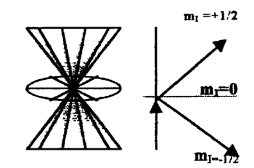
أما إذا كانت $I = ½$ إذن $m_I = ½\ .\ -½$

وبذلك تكون مستويات الطاقة (عدد الاتجاهــات) المســموح بــها للعزم المغناطيسي بالفراغ والناتجة عن الخواص المغناطيسية يســاوي أيضاً $2I + 1$ فذرات الهيدروجين (وكذلك ^{13}C, ^{19}F, ^{31}P لها رقم كوانتــم مغزلي $I = ½$ ولذا تأخذ m_I القيم ½ ، -1/2

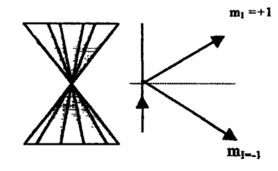
ويكون عدد الاتجاهات المختلفة للعزم المغناطيسي إثنين $2_I+1 =$ ٢ ½ + ١ .

ويكون العزم المغناطيسي الناتج لهذين الاتجاهين (μ) =

$1/2\ m_I\ h.\ ½\ g = -1/2\ m_I\ h.\ ½\ g$



اتجاه العزم المغناطيسي بالنسبة لاتجاه المجال المغناطيسي الخارجي وهما الإحتمالين المسموح بها في نواة ذرة الهيدروجين حيث رقم الكوانتم
- $_I$ = ½



إتجاهات العزم المغناطيسي الثلاثة وهما الاحتمالات الثلاثة المسموح بها في نواة ذرة الهيدروجين (^2H) حيث رقم الكوانتم المغزلي المغزلي $_I$ = 1 وعليه تكون m_I لهذه الاتجاهات هي 1 , 0 , 1−

أما طاقة هذه المستويات أو الإتجاهات والناتجة عــن الاتجاهــات المختلفة للعزم المغناطيسي فيمكن حسابها من:

طاقة المستوي (E) = $B. m_I \mu / I$

ففي حالة الأنوية ذات رقم الكوانتم المغزلي I = ٢/١يكون رقــم الكوانتم المغناطيسي= ½ , 1/2- وبالتالي تكون طاقة هذه المستويات:

$-B. \mu / 0.5/0.5 = E$ أو $-B. \mu / 0.5/0.5 = E$

الفرق في الطاقة بين هذه المستويات الناتجة عن الخواص المغناطيسية= $B/I \mu = \Delta E$

الفرق في الطاقة بين هذه المستويين - $B \mu 2$

-1/2 ∝ ΔE

+1/2 β

مستوي طاقة مرتفع وإتجاه العزم المغناطيسي للنواة في إتجاه مضاد للمجال المغناطيسي الخارجي

مستوي طاقة منخفض وإتجاه العزم المغناطيسي للنواة في نفس إتجاه المجال المغناطيسي الخارجي

-1/2 ∝ ΔE_1 ΔE_2 +1½ β

إتجاه العزم المغناطيسي ومستويات الطاقة تحت تأثير مجال مغناطيسي خارجي لنواة لها رقم كوانتم مغزلي = ٢/١

إتجاه العزم المغناطيسي ومستويات الطاقة تحت تأثير مجال مغناطيسي خارجي لنواة لها رقم كوانتم مغزلي = ١

و تتساوى عدد الأنوية (البروتونات) في المستويات - m=1/2 or)
(1/2 حيث تتساوى طاقتها في حالة عدم وجود مغناطيسي خارجي وتختلف في وجوده وهنا تحاول الأنوية توجيه نفسها بحيث يكون اتجاه الغرم المغناطيسي لها في اتجاه المجال المغناطيسي الخارجي وهنا يشغل المستوي المنخفض في الطاقة (β)أكبر عدد من البروتونات عن مستوى الطاقة (α) (m = -1/2) .

وباستخدام قانون بولتزمان لتوزيع الأنوية يمكن حساب عددها بكلا المستوين :

عدد البروتونات في المستوي α /عدد البروتونات في المستوي β=

$e^{-E/KT} = e^{-(2B\mu)/kT} = e^{-}$ الفرق في الطاقة بين المستويات / ثابت بولتزمان

ويتوقف الاختلاف في الطاقة بين المستويين علي العزم المغناطيسي وسقط المجال الخارجي وحيث أن العزم المغناطيسي للنوع الواحد من أنوية الذرات ثابتاً = ٢,٧٩٩٢٧ ماجنيتون بالنسبة للبروتون وعليه فإن الفرق في الطاقة بالنسبة للنوع الواحد من الأنوية يتوقف علي شدة المجال المغناطيسي الخارجي فزيادته (زيادة الفرق في الطاقة ΔG) تؤدي لزيادة عدد الأنوية بالمستوي بيتا عن ألفا.

امتصاص الأشعة وفقد طاقة الامتصاص(الإسترخاء) :

يختلف طاقة المستوي ألفا عن طاقة المستوي بيتا ($\Delta E = 2B\mu$) فامتداد الأنوية الموجودة في المستوي بيتا فترتفع لمستوي الطاقة ألفا ينعكس اتجاه عزمها إلي الاتجاه المضاد للمجال المغناطيسي الخارجي وتكون طاقة تردد الأشعة اللازمة لعملية الانتقال $2B\mu = AE = hv = E$ والتي تتوقف علي العزم المغناطيسي للنواة وعلي شدة المجال المغناطيسي الخارجي . ولكن عادة ما تفقد الطاقة المكتسبة بسرعة في عملية الانتقال لحدوث استرخاء :

- استرخاء بفقد الطاقة لبقية الجزئي: (Spin-Lattice Relaxation)

وهو ما يحدث بالسوائل والمحاليل والغازات وببطيء بالأجسام

الصلبة ويعبر عن كفاءته بالزمن المستغرق في نقل الطاقـــة مـــن النواة بالمستوى ألفا للمستوي بيتا وكلما قل الوقـــت زادت كفـاءة النقل فيتسع منحني الامتصاص .

- اســترخاء بتــأثير الحركــات المغزليـــة للأنويـــة المجـــاورة (Spin-spin relaxation) حيث تنتقل الطاقة من نواة المستوى المرتفع ألفا لنواة أخري بالمستوى المنخفض بيتا وهو ما يحـــدث بـــالمواد الصلبة .

تصميم أجهزة الرنين النووي المغناطيسي :

يختلف الجهاز المستخدم في دراسة أنوية عنصر عـــن العنصـــر الآخر لأن كل نوع من الأنوية يمتص طاقة الأشعة علي تردد مختلف.
وأهميته تكمن في قدرته علي تمييز نوع واحد من أنوية العنـــاصر بالنسبة للظروف المحيطة بالجزيء. وهذا ا يؤدي لامتصاص الأنويـــة علي ترددات مختلفة كالهيدروجين بمجموعـــة الميثيـــل أو بمجموعـــة المثيلين أو بمجموعة الهيدروكسيل وهنا يحدث لكل نـــوع امتصـــاص علي تردد مختلف ، كما أن كثافة الامتصاص في كل مجموعة يتناسب مع عدد البروتونات في هذه المجموعة فنحصل علي معلومـــات عـــن تركيب الجزيء .

١-المغناطيس: (Magnet) :
يستخدم لفصل مســـتويات الطاقـــة المغناطيســـية بأنويـــة ذرات الهيدروجين فتوضع العينة بيـــن قطبـــي مغنـــاطيس يعطـــي مجـــالاً مغناطيسياً متجانساً. وهـــذا المغنـــاطيس أمـــا دائمـــا (Permanent) أو مغناطيس كهربي (Electromagnet) .

٢-وحدة تغير شدة المجال المغناطيس(Magnetic field sweep generator)
يؤدي تغير شدة التيار الكهربي المســـتمر بملـــف متصـــل بمولـــد كهربي صغير في مواجهة قطبي مغناطيس إلي تغـــير شـــدة المجـــال

المغناطيسي في منطقة العينة في حدود طفيفة وبالتـالي تـردد أشـعة الراديو المستخدمة :
فجهاز الرنين النووي المغناطيسي ستون ميجا هرتز يسـتخدم أشـعة ترددها ستون ميجا هرتز ويكون شدة مجالها المغناطيسي هـو ١٤٠٥١ كيلوجـاوس ويعمـل علـي فصـل مسـتويات بحيـث تكـون ΔG في مدي أشعة الراديو.

وحيث أن أنوية ذرات الهيدروجين المختلفة تمتص الاشـعة فـي مدي تقارب من الطاقة فإنه يتغير شدة المجال المغناطيسي فـي مـدي ضيق يمكن الوصول للطاقة المناسبة لامتصاص البروتونات وبزيـادة شدة المجال (زيادة AE) يزداد تردد الأشعة كما أن زيارة شدة المجال تؤدي لفصل جيد الامتصاصات الناتجة من أنوية الجزيئ.

٣-مصدر أشعة الراديو (Radio frequency):
ويستخدم مذبذب أشعة الراديو (R.F. oscilator) ويغذي به سـلك مزدوج يلف حول العينة ويسمي بملـف الإرسـال (Transmitter Coil) عمود علي أتجاه المجال المغناطيسي. وتختار وحدة إنتاج الأشعة بنـاء علي تردد الأشعة المطلوب والـذي لا يتوقـف علـي شـدة المجـال المغناطيسي فعند إستخدام مغناطيس ١٤,٠٩ كيلو جاوس يكون تـردد الأشعة المطلوب هو ٦٠ ميجاهرتز وعند إستخدام مغناطيس شدته أكـبر تستخدم وحدات إنتاج أشعة ترددها أعلي ومستقطبة وحيدة المستوى.

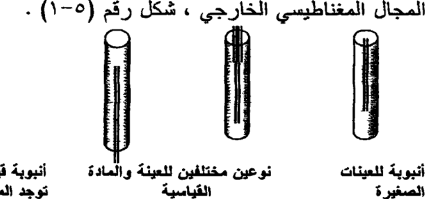
والأشعة الكهرومغناطيسية (أشعة الراديو) هنا ذات طول موجـي كبير جدا ويصعب التحكم في تغيير الطول الموجي هنا لـذا نسـتخدم حزمة ثابتة من أشعة الراديو بينما يغير من شدة المجال المغناطيسـي فيحدث الامتصاص عند تسـاوي AE مـع طاقـة الأشـعة $hv = 3\mu 2$ فالطالما أن لكل نواة هيدروجين بالجزيئ AE خاصـة بـه فتحـدث الامتصاص للبروتون بالجزيئ يتغير شدة المجـال المغناطيسـي فـي وجود حزمة ثابتة ذات تردد مناسب من أشعة الراديو.

٤-وحدة الكشف عن الامتصاص:

يمكن الكشف عنها بملف استقبال من السلك يحيط بالعينة ويكـــون عمودياً علي ملف الإرسال والمجال المغناطيسي ويتولـــد فيـــه فيـض كهربي ينتقل للمستقبل حيث يتم تكبيرة وتسجيله. فمســتوي أســتقطاب أشعة المصدر المستقطبة وحيدة المستوى (XZ) ويكون ملف الإستقبال في اتجاه المحور (y) والمجال المغناطيســـي المســتخدم فـــي اتجـــاه المحور (Z) . ويمكن تصور أن الأشعة وحيدة المستوى تتكـــون مـــن عنصرين من الأشعة المستقطبة الدائرية (يميني ويساري) ففـــي حالـــة عدم وجود امتصاص يتساوي العنصرين اليمني واليســاري وبذلـــك لا يكون لها وجود في اتجاه المحور (y) فـــلا يســتقبل المســتقبل أي اشارات. وعندما تمتص نواة العينية الأشعة امتصاص لأحد العنصريـن وعلية فأضافها هذين العنصرين بعد الامتصاص لـــهذا العنصـــر أي أن العينة تربط أشعة المصدر ووحدة القياس ودرجة الربط تتوقف علــــي عدد البروتونات التي تمتص الاشعة.

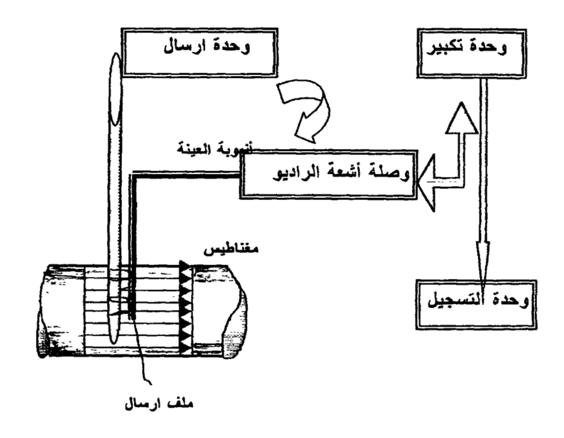
٥-وحدة وضع العينة:

وهي أنابيب زجاجية قطرها الداخلي ٥ ملليمــتر أو قـــد تســتخدم أنابيب عادية لوضع العينة أو أنابيب مزدوجة لوضع العينــــة والمـــادة القياسية. وتتصل الأنبوبة بتربين هوائي بواسطته تدور الأنبوبة حـــول محورها عدة مئات/ د. فيقلل من التأثير الناتج عن عدم التجانس فـــي المجال المغناطيسي الخارجي ، شكل رقم (٥-١) .



شكل رقم (٥-١) : وحدات وضع العينة

ويجب إلا يحتوي المذيب هنا علي هيدروجين في تركيبه لذا يستخدم مع المركبات القطبية رابع كلوريد الكربون ومع المواد الغير قطبية مذيب قطبي يحتوى علي نظير الهيدروجين فيوضع من ٢٠-٣٠ ملليجرام من العينة (أو ٥٠ ميكروليتر) بالأينوية ثم يضاف ٠,٥ملل من المذيب المناسب (بحيث يصل الأرتفاع بالأنبوية إلي ٤ سم) ثم تضاف المادة القياسية والتي غالباً ما تكون تتراميثل سيلان (Tetramethyl silan)



شكل رقم (٥-٢): يوضح الأجزاء الرئيسية لأجهزة الترددات المغناطيسية للنواة.

الرنين المغناطيسي للبروتون (Proton Magnetic Resonance) :

لشرح طيف الرنين المغناطيسي للـــبروتون والتعــرف علـــي تركيـــب الجزئيات يجب الإلمام بالنقاط التالية :

١-الانتقال الكيميائي (Chemical Shift : δ) :

يوضح الظروف الكيميائية الموجود فيها الـــبروتون بـــالجزيء كنـــوع المجموعات الكيميائية الموجود في تركيبها البروتون (OH, NH, CH, CH_2, CH_3) وتوضح المساحة تحت كـــل منحنـــي امتصـــاص عـــدد البروتونـــات فـــي المجموعات المجاورة .

- فإذا كانت شدة المجال المغناطيسي(Bo) الذي تحس بـــه أنويـــة ذرات الهيدروجين متساوي فإن الفرق في الطاقة ΔE بين المستويين ألفا وبيتـــا يكون متساوي لجميع أنوية الهيدروجين بالجزيء ($2\ \beta\ \mu = \Delta E$) حيـــث قيمة (μ) ثابتة لكل أنوية الهيدروجين لذا يحدث امتصاص للأنوية عنـــد طول موجي واحد لأشعة الراديو ويظهر منحني امتصاص واحد .
- ولكن عندما ترتبط ذرات الأيدروجين بعناصر أخري بروابط كيميائيـة تصبح ذرات الأيدروجين في ظروف إليكترونية جديدة تتوقف علي نـــوع الروابط والعنصر والتوزيع الإليكتروني بالجزيء فتمتـــص البروتونـــات الأشعة علي ترددات مختلفة ويسمي موضـــع الامتصاصـــات بالانتقـــال الكيميائي وقيمته تحدد نوع المجموعة الكيميائية بالجزيء المحتوية علـــي البروتون المسئول عن هذا الامتصاص.

ويرجع لحدوث دوران للسحابة الإليكترونيـــة حـــول النـــواة بالمجـــال المغناطيسي الخارجي(Bo) وينشأ عن حركة دوران الإليكترون تيار مســـتحث ينتج عنه عزم مغناطيسي مستحث شدته (δ Bo) عند النواة وباتجـــاه مضـــاد لاتجاه المجال المغناطيسي الخارجي فتنخفض شدة المجال الخـــارجي عنـــد النواة ($B\ local : Bo = Bo\text{-}Bo\ \delta$) عن شدة المجال المغناطيسي الخـــارجي حيـــث ثابت التغليف (Shielding constant : δ) والمتوقف علي الكثافة الإليكترونية حول النواة والمحدد بطبيعة المجاميع المجاورة.

وشدة المجال المغناطيسي المؤثر و المحث للأنوية يختلف باختلاف الكثافة الإليكترونية حول البروتونات بالجزيء وينعكس ذلك في شدة المجال المؤثر علي بروتون لآخر لاختلاف قيمة الفرق في الطاقة $\Delta E = h\nu = (2\mu B_1)$ وبالتالي لاختلاف تردد الأشعة وعليه فاحتواء الجزيء علي بروتونات مختلفة في الكثافة الإليكترونية حولها تختلف قيمة فرق الطاقة لها ويعطي الجزيء عدد من الامتصاصات تماثل عدد الأنواع المختلفة من البروتونات.

٢-قياس الانتقال:

روعي ألا تتوقف قيمة الانتقال علي شدة المجال المغناطيسي بالأجهزة المختلفة حتى لا نحصل علي قيم مختلفة للانتقال الكيميائي لمركب واحد باختلاف أنواع الاجهزة وذلك باستخدام مادة قياسية تحتوي علي نوع واحد من الهيدروجين واعتبار الامتصاص الناتج عنها نقطة البداية ثم تحدد مواقع الامتصاص الخاصة ببروتونات المادة المرغوب دراستها بالنسبة للمادة القياسية ويكون انتقال البروتونات بالجزيء هو الفرق في مواضع الامتصاصات (ترددها) وامتصاص المادة القياسية (تتراميثيل سيلان (TMS) لسهولة ذوبانها بالمذيبات العضوية درجة غليانها ٢٧°م فيسهل التخلص منها علاوة علي إعطائها امتصاص حاد وكثيف لوجود ١٢ ذرة متماثلة غير فعالة أو تستخدم مادة -٣ تراي إيثيل سيليل - بروبان سلفونيك مع المركبات القطبية المجهزة في الماء المحتوي علي الديوتيريم) .

فالانتقال الكيميائي (δ) =
تردد أشعة الراديو الممتصة بالبروتون(Vs) -VTMS / تردد أشعة الراديو بالجهاز(Vo)

وتكون قيمة الإنتقال الكيميائي لأي بروتون واحدة بغض النظر عن شدة المجال المغناطيسي (١-١٢) وتجري معايرة لضبط الامتصاص الناتج عن المادة القياسية باستخدام تردد معروف لتقدير قيمة الانتقال ويستخدم ورق بياني معاير لتسجيل طيف الامتصاص وهنا يكون المطلوب ضبط امتصاص (TMS) علي صفر انتقال كيميائي وعند أجراء القياس لمادة تضاف كمية صغيرة من المادة القياسية ويصفر الجهاز بحيث يعطي صفر انتقال يرجع لكبر الكثافة الإليكترونية حول بروتوناتها بالمقارنة بمعظم البروتونات

الموجودة في المركبات العضوية الأخرى فيظهر امتصاصها علي تردد أعلي من كل بروتونات المواد العضوية.
وتكون قيمة وحدة الانتقال (δ) بأجهزة الرنين المغناطيسي ٦٠ ميجا هرتز ٦٠ هيرتز وتكون الامتصاصات مفصولة عن بعضها بمقدار ٦٠ هيرتز وشدة المجال ١,٤ تاسلا بينما بأجهزة الرنين المغناطيسي ٤٠٠ ميجا هرتز تكون قيمة وحدة الإنتقال ١٠ هيرتز وتكون الامتصاصات مفصولة عن بعضها بمقدار ١٠٠ هيرتز وشدة المجال ١,٤ تاسلا.

وإذا احتوي الجزيء علي :

- نوع واحد من البروتونات أعطي امتصاص واحد مميز لنوع البروتون الموجود بالجزيئ ويرجع لوجود درجة من التماثل تجعل جميع البروتونات متكافئة فالبروتونات الحادث لها امتصاص علي نفس التردد (نفس قيمة الانتقال الكيميائي) تسمي بالبروتونات المتكافئة في الأنتقال الكيميائي أو البروتونات المتكافئة في الترد لإمكانية تبادل مواضعها بالجزيء نتيجة الدوران أو الانعكاس أو الانقلاب أو الدوران والانعكاس بالنسبة لمحور ومستوى ومركز التماثل غير الحقيقي علي الترتيب.
- أما إذا أحتوي الجزيء علي أنواع مختلفة من الهيدروجين فإن طيف الرنين المغناطيسي لها يحتوى علي عدد من الامتصاصات لها قيم مختلفة للانتقال الكيميائي ويكون عدد الامتصاصات مماثل لعدد الأنواع المختلفة من الهيدروجين.

٣-علاقة الانتقال الكيميائي بتركيب الجزيء

تتوقف قيمة الانتقال الكيميائي علي شدة المجال المغناطيسي الذي تحس به الأنوية المختلفة ويتوقف ذلك علي:

٣-١-تأثير الكثافة الإليكترونية:

تتوقف الكثافة الإليكترونية حول البروتون علي :

٣-١-١-درجة كهروسالبية النواة المرتبطة بالهيدروجين فتقلل المجاميع الساحبة الكثافة حول البروتون فتزيد شدة المجال المغناطيسي الخارجي المؤثر عند النواة فتمتص الأنوية الأشعة علي تردد مرتفع بالنسبة للمادة القياسية فتكون قيمة انتقال الكيميائي كبير (والعكس)

٣-١-٢-زيادة المجاميع الساحبة للألكترونات تخفض الكثافة الإليكترونية حول البروتون فتزيد قيمة الانتقال الكيميائي .
٣-١-٣-كلما ابتعدت المجاميع الساحبة عن ذرة الهيدروجين انخفض تأثيرها علي سحب الالكترونات فينخفض الانتقال.

٣-٢-تاثير تباين الخواص المغناطيسية:

فالمركبات المحتوية علي إليكترونات باي بالروابط الزوجية والثلاثية تكون أقل أرتباطاً من مثيلها بالروابط سيجما ويقل الارتباط أكثر بالروابط الزوجية فالثلاثية . فتحت تأثير مجال مغناطيسي خارجي تدور هذه الإليكترونات محدثة مجالاً مغناطيسياً ثانوياً يؤثر علي قيمة المجال المغناطيسي الخارجي عند الأنوية وقد يكون هذا المجال في اتجاه (فيؤدي لشدة المجال عند النواة كما بالأسيتالدهيد) أو عكس اتجاه المجال المغناطيسي الخارجي (فيؤدي لخفضه كما الأستيلين) ويوضح الجدول التالي رقم (٥-١) قيمة الانتقال الكيميائي لبعض المركبات العضوية شائعة الاستعمال حيث يمكن استخدام قيم الانتقال الكيميائي في التعرف علي المجموعات الكيميائية المختلفة بالجزيء والتي تتغير قيمتها من مجموعة لأخرى :

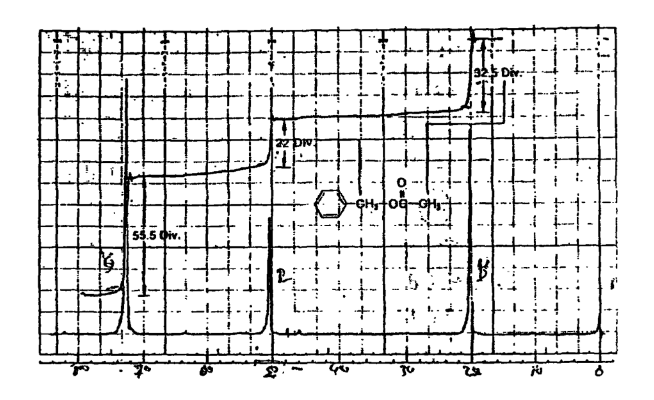
- فتزداد بالمركبات الاليفاتية قيمة الانتقال بالنحو التالي: CH>CH2> CH3 ويقع انتقالهم في المدى ٠,٩ و١,٣ و١,٥ علي الترتيب.
- يقع الانتقال بالمركبات الاوليفينية في المدى ٤٠. -٦.٥
- يقع الانتقال بالمركبات العطرية في المدى ٩-٧
- الانتقال الكيميائي لبروتون مجموعات COOH , NH2, NH , OH يتوقف علي درجة الحرارة وطبيعة المذيب والتركيز لقابلية البروتون لتكوين روابط هيدروجينية فيكون الامتصاص الناتج عريض يصعب كشفه.

جدول رقم (٥-١) : قيمة الانتقال الكيميائي لبعض المركبات العضوية الشائعة

T	δ		المركب
٩,٧٨	٠٠,٢٢	C_3H_6	بروبان حلقي
٩,١٢	٠٠,٨٨	$CH_3 - CH3$	إيثان
٨,٨٤	١,١٦	$CH_3-CH_2-O-CH_2-CH3$	داي إيثيل إيثر
٨,٧٨	١,٢٢	CH_3-CH_2-OH	إيثانول
٨,٧٥	١,٢٥	$CH_3-COO-CH_2-CH_3$	إيثيل أسيتات
٧,٩٧	٢,٠٣	C_6H_{12}	هكسان حلقي
٨,٥٦	١,٤٤	C_3H_6	بروبين
٨,٢٩	١,٧١	$CH\equiv C-CH_3$	بروباين
٨,٢٠	١,٨٠	CH_3-COOH	حمض الخليك
٧,٩٠	٢,١٠	$CH_3-CO-CH_3$	الاسيتون
١,٣٧	٨,٦٣	CH_3-CHO	استيالدهيد
٧,٨٣	٢,١٧	$C_{6H6}CH_3$	تلوين
٧,٨٠	٢,٢٠	CH_3-N-CH_3	امين ثلاثى الإيثيل
٧,٦٨	٢,٣٢	$CH\equiv CH$	استيلين
٧,٥٨	٢,٤٢	CH_3Cl	مثيل كلوريد
٧,١٢	٢,٨٨	$CH_2=Cl_2$	إيثيلين
٦,٩٠	٣,١٠	$CH_2=CH_2$	بنزين
٤,٧٠	٥,٣٠	C_6H_6	بنز الدهيد
٤,١٦	٥,٨٤	C_6H_5CHO	
٢,٧٣	٧,٢٧		
٠,٠٤	٩,٩٦		

٤-المساحة تحت كل امتصاص :

تمثل الامتصاصات الرئيسية في الرنين النووي المغناطيسي عدد أنواع ذرات الهيدروجين بالجزيء (المجاميع الكيميائية المختلطة) وتتناسب المساحة تحت المنحني لكل امتصاص طردياً مع العدد النسبي لذرات الهيدروجين بكل مجموعة ويتم حساب مساحتها بوحدة تكامل بالجهاز عن طريق خط رأسي طوله يعبر عن العدد النسبي لذرات الهيدروجين بالامتصاص فخلات البنزيل تعطي ثلاث امتصاصات مساحتها ٣٢, ٢١ , ٥٢ فتكون نسبة ذرات الهيدروجين في هذه الامتصاصات هي ٣ , ٢ , ٥ وهي تعبر ذرات الهيدروجين بمجموعة الفينيل ومجموعة CH_2 . CH_3 شكل رقم (٥-٣) .



شكل رقم (٥-٣) : طيف الرنين لخلات البنزيل

٥-أزدواج الحركات المغزلية للأنوية المتجاورة :

الكثافة الإليكترونية حول نواة الهيدروجين والتوزيع الفراغي لهذه الذرات في الجزيء مسؤلان عن تحديد شكل طيف الامتصاص وعلية فمن المتوقع الحصول علي طيف امتصاص للجزيء يحتوي علي عدة امتصاص فردية يعبر كل منها عن نوع واحد من البروتونات المتماثلة وتعبر كثافة كل امتصاص عن العدد النسبي لذرات الايدروجين ولكن بمقارنة طيفي فورمات الإيثيل وخلات البنزين شكل رقم (٥-٤) نجد امتصاصين رئيسين من الثلاثة (لثلاث مجموعات مختلفة من الهيدروجين) بفورمات الايثيل تنقسم داخليا لعدة امتصاصات نتيجة التأثير المغناطيسي المتبادل بين البروتونات المتجاورة والغير متكافئة : أزدواج مغزلي (Spin-spin coupling) ويتم خلال إليكترونات الروابط بين هذه البروتونات ويقل تأثيره إذا ما ابتعدت البروتونات عن بعضها بأكثر من ثلاث روابط ويتوقف عددها علي عدد ذرات الهيدروجين المجاورة .

٦-مصدر الأزدواج المغناطيسي :

يوجد نوعين من التأثير المتبادل للحركات المغزلية للبروتونات:

- تأثير مباشر خلال الفراغ : تـأثير ثنـائي القطـب (Dipolar effect) : ويظهر بالجزئيات بطيئة الحركة جداً أو بالمحاليل ذات اللزوجة العالية .
- تأثير غير مباشر : أزدواج مغزلي وترجع لـه الأنقسـامات الحادثـة بمحاليل المواد وينتقل من بروتون لأخر خلال الإليكترونات الداخلة فـي تكوين الروابط بين البروتونات :

*ففي نصف الجزيئ يكون العزم المغناطيس للذرات باتجاه المجال المغناطيسي الخارجي

*وفي النصف الآخر يكون العزم المغناطيسي للذرات في اتجاه عكس اتجاه المجال المغناطيسي الخارجي .

*وعليه فالذرات الموجودة بمستوى الطاقة المنخفض عزمها في اتجاه المجال المغناطيسي الخارجي وتكون متأثرة بالعزم المغناطيسي بذرات النصف الأخر وينقل خلال إليكترونات الرابطة والذي أما أن يكون في اتجاه المجال المغناطيسي الخارجي فتقوي شدة المجال فيحدث امتصاص علي تردد أعلي أو يكون في اتجاه مضاد لاتجاه المجال المغناطيسي الخارجي فينخفض شدة المجال المغناطيسي الخارجي عند الذرة HA فينقسم الامتصاص HA الامتصاص HA الانقساميين (الامتصاصيين) يتوقف علي عدد البروتونات المجاورة لهذه المجموعة. ويطلق علي الفرق بين هذه الانقسامات ثابت الازدواج(Coupling constant : J) ويقدر بوحدات التردد ولا يتغير قيمته بتغير شدة المجال المغناطيسي الخارجي وبناء علي قيمة الانتقال الكيميائي وثابت الازدواج يقسم طيف الرنين النووى المغناطيسي إلي:

٦-١-طيف الرتبة الأولي :

وهو طيف بسيط إذا كانت قيمة الانتقال الكيميائي بين المجموعتين الحادث بينهما الازدواج كبيرة بحيث ($J/v < 0.1$) ويتبع لقواعد التالية:

٦-١-١-تحدث هذه الانقسامات للتأثير المغناطيسي المتبادل بين الأيونات الغير متكافئة في قيمة الانتقال.

ذرات الهيدروجين بالمجموعة المجاورة أما إذا كانت هناك مجموعة مجاورة فتؤخذ في الاعتبار وكلا علي حدة فعلي سبيل المثال المجموعة (Chy-Cha-CHx) يكون تأثير ذرة الهيدروجين x علي A هو انقسامها لاربعة أمتصاصات

٦-١-٣-الكثافة النسبية للانقسامات .

٦-١-٤-البروتونات التي لا تنفصل عن بعضها بأكثر من ثلاث روابط يكون قيمة ثابت الازدواج كبيرة وتقل قيمته بعد ذلك بحيث تكون أقل من عرض الامتصاص الرئيسي فلا يمكن ملاحظة.

٦-١-٥-لا تظهر عملية ازدواج مغناطيسي في الطيف بين البروتونات المتماثلة المتكافئة مغناطيسياأي البروتونات التي تحتوي علي نفس التردد ويكون لها نفس ثابت الازدواج مع البروتونات في المجموعات المتجاورة.

٦-١-٦-الأنوية التي لها نفس التردد (قيم الانتقال) تكون متساوية في الدورة الزمنية فغالبا ما تكون متكافئة كيميائيا ولكن ليس من الضروري أن تكون متكافئة مغناطيسيا.

فيروتونات مجموعة الميثيل متكافئة مغناطيسيا لدورانها الحر حول الرابطة الكربونية CH3 – C كما للبروتونات الثلاثة نفس المتوسط الزمني وبالتالي لهم نفس التردد ويكون ثابت الأزدواج متساوي مع البروتونات المجاورة وبالتالي تكون متكافئة مغناطيسيا. ويرمز للبروتونات المتكافئة والغير متكافئة مغناطيسيا بالرمز BB, AA ولمعرفة ما إذا كانت البروتونات المتكافئة كيميائيا متكافئة مغناطيسيا فيجب تحديد ما إذا كانت هذه البروتونات يحدث لها أمتصاص يتساوي مع البروتونات بالمجموعات الاخري. ويوضح الجدول التالي (٥-١)ثابت الأزدواج لبروتونات بعض المواد العضوية

جدول رقم (٥-١) : ثابت الإزدواج لبروتونات بعض المواد:

نوع المركب Type of Compound	ثابت الازدواج J, Hz	نوع المركب Type of Compound	ثابت الازدواج J, Hz
$>C<$ (H, H)	12–15	cyclohexane (H_a, H_e)	(a–a) 8–10 (a–e) 2–3 (e–e) 2–3
$>CH—CH<$ (free rotation)	6–8	benzene (H, H)	(o) 7–9 (m) 2–3 (p) 0–1
$>CH—OH$ (—NH) (no exchange)	5		
$>C=C<$ (H, H)	0–3	pyridine	(2–3) 5 (3–4) 8 (2–4) 1.5 (3–5) 1.5 (2–5) 1 (2–6) 0
H—C=C—H	(cis) 6–14 (trans) 11–18		
$>CH—CHO$	1–3	pyrrole	(1–2) 2–3 (1–3) 2–3 (2–3) 2–3 (3–4) 3–4 (2–4) 1–2 (2–5) 1–3

ويلاحظ من الجدول ما يلي :

- قد يلاحظ الازدواج المغزلي في البروتونات المفصولة عن بعضها بأكثر من ثلاث روابط زوجية وذلك إذا تضمنت هذه الروابط على رابطة زوجية أو ثلاثة أو غير كربونية مثل H-C-O-H ، H-C-N-H
- يتوقف ثابت الازدواج على العلاقة الهندسية بين البروتونات فيكون المشابه مخالف(١١-١٨) أكبر من المضاهي (٦-١٤) .
- نواة الهيدروجين ليست الوحيدة المحتوية على خواص مغناطيسية والمقتصر عليها الازدواج فقط بل أيضا الفلور والفسفورفلهما رقم كوانتم مغزلي (I) = ½ فعدد الانقسامات بالامتصاص من تأثيرهما مشابه لتلك الناتجة عن البروتون ولكن يلاحظ أن ثابت الازدواج يكون كبيراً ويحدث خلال عدة روابط.

- في مركب تراي فلورو إيثانول يلاحظ امتصاص مجموعة Ch_2 فـــي أربعة امتصاصات لوجود ٣ ذرات فلور مجاورة ولا يشاهد انقسام مـــن البروتون علي ذرة الأكسيجين وذلك لتبادله السريع مع الوسط.
- يلاحظ أزدواج كبير بين الفوسفور ^{31}P والهيدروجين ^{1}H فالطيف يشـــير للازدواج بينهما بالفوسفيت تراي ميثيل بحدود١٢هرتز خلال٣ روابط
- البروتونات المرتبطة بذرة غير كربونيه تكون أقـــل ارتباطـــا فـــأقل تعرضاً للتأثير الناتج من المجال المغناطيسي للبروتونات المجـــاورة لـــذا فغالبا ما تعطي امتصاص فردي(Singlet) كما أن وجوده مع هذه الـــذرات يجعل موضع امتصاصه غير ثابت لتغير الكثافة الإليكترونيـــة حولـــه أو من تأثير المجموعات المرتبطة ويتوقف علي الظروف المحيطة بالمحلول
- معاملة الكحولات النقية ببعض المركبات مثل الأسيتون أو داي ميثيـــل سلفيد يخفض معدل تبادل البروتون بمجموعـــة الهيدروكســـيل فيحـــدث أزواج بينهما ويصبح أمتصاص مجموعة الهيدروكسيل ثلاثـــي (Triplet) بالكحولات الأولي وثنائي (Doublet) بالكحولات الثانية.
- تمتص الفينولات في المدي ٤-٧,٥ أمـــا إذا تكونـــت بـــها رابطـــة هيدروجينية داخلية ينتقل الامتصاص إلي١٠-١٢وفـــي صـــورة فرديـــة للتبادل السريع في مجموعة الهيدروكسيل.
- الأحماض العضوية والموجودة في صورة ثنائية يحدث بها أمتصـــاص فردي عند ١٠- ١٢ويتأثر بالتركيز وعند وجودها في المذيبات القطبيـــة يحدث تغير لوضع الامتصاص.
- النتروجين ^{14}N بالمركبات النيتروجينة له رقم مغزلي=١ فمن المتوقع أن يؤدي لانقسام البروتون المرتبط بـــالنتيروجين (NH) والبروتونـــات المجاورة الأخري إلي ٣ أنقسامات ويتوقف ذلك علي التبادل للبروتونـــات علي النتروجين فيكون التبادل :

سريعا: بالأمينات الأليفاتية فيظهر امتصاص البروتون المرتبط بالنيتروجين كامتصاص فردي ضعيف لا يتأثر بالنيتروجين أو البروتونات المجاورة .

متوسط :بالأمينات الأليفاتية فيظهر امتصاص البروتون المرتبط بالنيتروجين كامتصاص عريض ولا يحدث أنقسام ببروتون علي ذرة الكربون المجاورة .

بطئ :بالبيرولات والاندولات والكرباميت فيظهر امتصاص البروتون المرتبط بالنيتروجين كامتصاص عريض مع حدوث ازدواج بين البروتون والبروتونات المجاورة المحتوية عل مجموعة (SH)

٦-٢-طيف الرتبة الثانية :

عندما تنخفض وتتقارب قيمة الانتقال الكيميائي لقيمة ثابت الازدواج ($J/\Delta V < 0.1$) يزداد عدد الانقسامات عن (n+١) ويتغير التماثل في كثافة الامتصاصات كثيرا وصعب استنتاج قيمة الانتقال الكيميائي/ امتصاص رئيسي كذلك ثابت الازدواج وتحليل الطيف وتركيب الجزئيات عند فحص الطيف بمفرده لذا يكون ضروري الاستعانة ببعض تجارب الرنين الأخري.

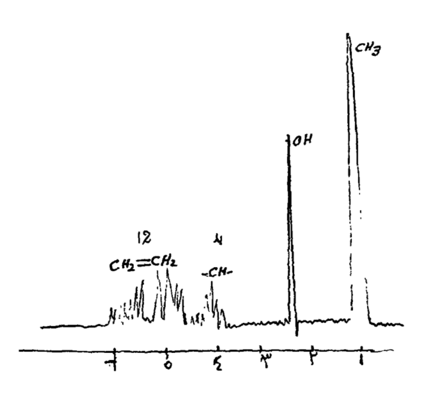
وبملاحظة طيف ٣-بيوتين - ٢ أول ، شكل (٥-٤) نجد أن عدد الامتصاصات الداخلية أكبر من المتوقع من قواعد الرتبة الأولي :

- فالامتصاص الثنائي عند ١,٢ δ امتصاص مجموعة الميثيل
- أما الامتصاص الفردي عند ٢,٤ δ امتصاص مجموعة الهيدروكسيل.
- الامتصاص الخماسي عند ٤,٢ δ فيرجع لامتصاص الهيدروجين بمجموعة المثيلين - CH - والذي يحدث له ازدواج بين مجموعة الميثيل والبروتون في مجموعة (=CH) وهناك ١٢ امتصاص اخري ترجع لمجموعة (CH_2=CH) وهنا كان المتوقع أن نجد ٥امتصاصات (ثلاثي وثنائي لمجموعتي(CH_2, CH) والسبب أن مجموعة = CH_2 عبارة عن نظام (ABX) فالبروتونات في مجموعة CH_2 لها نفس δ ولذلك يعبر عنها (AB) أما البروتون = CH فله δ مختلف ولذا يأخذ الرمز ×.

وبالفحص الدقيق نجدها > ١٥ وهذا يعود للنظام ABX والذي يحدث له انقسامات من البروتونات في المجموعة CH-OH المجاورة أي أن النظام بهذه المنطقة يمكن التعبير عنه بالنظام (ABMX) ليشمل البروتونات الأربعة التي يحدث بينها ازدواج متبادل أي أنه طيف معقد من الدرجة الثانية.

ولزيادة فهم طبيعة طيف الرتبة الثانية (أي الأنتقال من نظام AX (طيف الرتبة الأولي) إلي النظام AB ، AH ثم النظام `AA (طيف الرتبة الثانية):

فالطيف الذي يمثل النظام AX يتكون من امتصاصين رئيسين ينقسم كل منهما لامتصاصين وتكون الامتصاصات الأربعة (الخطوط) متساوية في الكثافة كما في الشكل رقم (٥-٥ أ):

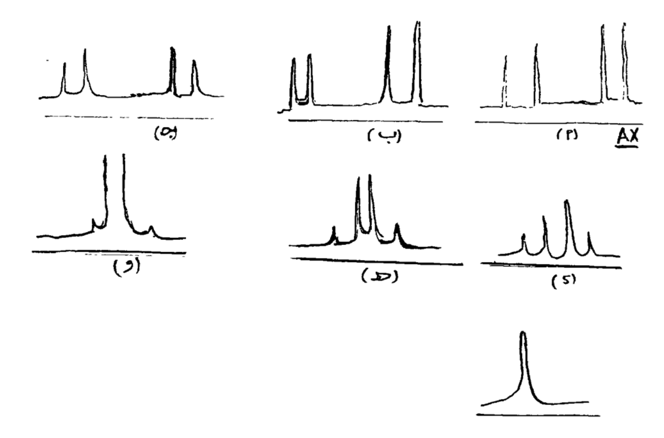


شكل رقم (٥-٤) : طيف الرنين لمركب ٣-بيوتين-٢-أول

- وبأنخفاض قيمة الانتقال بيـــن X,A تنخفــض خطــوط الامتصـــاص الخارجية ويتحول النظام (AX) إلي نظام AM ويعد هذا التغير في كثافـة الامتصاصات الداخلية والخارجية الإشارة الأولي بأن الطيـــف لـم يعـد طيف من الرتبة الأولي.
- وتبدأ الخطوط الخارجية بتحول الطيف من النظام (AM) إلي النظـــام (AB) في الإختفاء (طيف د ، هــ) ويشاهد فقط امتصاص واحد في حالـة النظام AA (طيف و - ز).
- والطيف الذي يبدأ فيه ظهور خواص الرتبة الثانية (الإنحناء) يمكـــن تحليلة كطيف رتبة أولي .
- ولا يمكن حساب الانتقال الكيميائي بالضبط من مركـــز الانقســامات لعدم وجود تماثل في خطوط الامتصاص .
- ولتفسير الطيف المعقد للرتبة الثانية والذي لا يتبع القاعدة (n+1) هنـاك بعض الطرق لتحويل النتائج من الدرجة الثانية إلي الدرجة الأولي.

- أجهزة ذات مجال مغناطيسي قوي (٢٢٠-٢٦٠ ميجا هيرتز) :

حيث يتوقف الانتقال الكيميائي علي شدة المجال المغناطيسي فنجـــد انفصال في الامتصاصات الرئيسية لحدوث انتقال فـــي مـدي واســع مــن



شكل رقم (٥-٥) : طبيعة طيف الرتبة الثانية

الترددات بينما يظل ثابت الأزدواج ثابت بدون تغير لأنه لا يتوقف علي شدة المجال ويتحول الطيف من الرتبة الثانية ABC إلي الرتبة الاولي AMX.

- إزالة الازدواج المغزلي :

فإزالته تبسيط الطيف وبذلك يحدد الموضع النسبي لبروتونات بالجزيء و مصدر الانقسام بكل امتصاص رئيسي فإذا تصورنا مجموعتي بروتونات [(BC ، AC) B , A] فامتصاص كلاهما يظهر بصورة ثنائية نتيجة التأثير المغزلي المتبادل بينها : فأشعاع الذرة (B) بالراديو عند التردد الخاص بها عند المجال المغناطيسي المطابق لامتصاص الذرة فيحدث تغيير في العزم المغناطيسي الخاص (B)من الاتجاه الموازي للاتجاه المضاد للمجال المغناطيسي الخارجي بسرعة فلا تحس به الذرة (A) وعليه فعند تسجيل الامتصاص في منطقة الذرة A يظهر امتصاص فردي لزوال الانقسام الثنائي الناتج من تأثير الذرة (A)

▪ استخدام جواهر تزيد من الانتقال الكيميائي :

عند اضافة أحدي الجواهر الكشافة ذات القدرة علي زيادة قيمة الانتقال بمحلول مركب طيفه معقد يتم تشعيعها ويكون الطيف الناتج مبسط حيث يتشابه تأثيرها مع تأثير استخدام مجال مغناطيسي قوي .

▪ طيف الكربون المناظر :

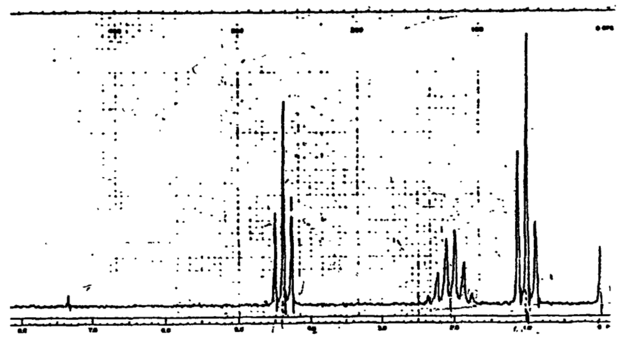
إذا لم تنجح الطرق السابقة في تبسيط الطيف للمركب فيمكن الاستعانة بإجراء التحليل بالنظر إلي الكربون المناظر ١٣ بدلا من الايدروجين فمن المعروف أن الكربون العادي لا يعطي امتصاصات بينما الكربون ١٣ والموجود طبيعياً بنسبة ١.١% يحدث له ترددات مغناطيسية مثله مثل الايدروجين إلا أن هذا النوع الخاص بالكربون يتم علي طاقة مختلفة عن تلك المستعملة في حالة الايدروجين وبالتالي يضبط الجهاز علي هذه الطاقة وفي هذه الحالة تظهر عدة امتصاصات تمثل عدد الانواع المختلفة من الكربون علماً بأن عمليات الازدواج السابق ذكرها في حالة الايدروجين لا تحدث في الكربون ومنها يمكن التوصل للتركيب الكيميائي.

اعتبارات وتطبيقات للتحليل الطيفي بالتردد النووى المغناطيسي :

١- المركبات العضوية المحتوية علي نوع واحد من الأيدروجين فإن كل منها يعطي امتصاص واحد مميز لكل مركب علي قيمة معينة من (δ) حسب نوعه (هيدروجين بنزين أو سيكلوهكسان أو إيثان ....) أما إذا احتوي جزيء المركب علي أنواع مختلفة من الأيدروجين فأنه يعطي عدداً من الامتصاصات تماثل عدد الأنواع المختلفة من الايدروجين .

٢-المركبات التي تعطي طيف من الدرجة الأولي تتبع القاعدة $n + 1$ كما هو الحال في مركب $C_3H_7NO_2$ فهناك ثلاث امتصاصات عند (δ) ١، ٢، ٤,٣ مما يدل علي وجود ثلاث أنواع من H وبقياس المساحة تحت كل امتصاص نجد أنها ٣، ٢، ٢ علي الترتيب مما يدل علي وجود مجموعة ميثيل ومجموعتين ميثلين بالجزيء والتي تمثل C_3H_7 وبالنظر إلي مجموعة الميثلين عند (δ) ٤,٣ نجد أنها مقسمة إلي ثلاثة اقسام بنسبة ١ : ٢ : ١ مما يدل علي أنها مجاورة لذرة كربون تحمل ذرتين H ($n + 1 = 2 + 1 = 3$) ووقوعها

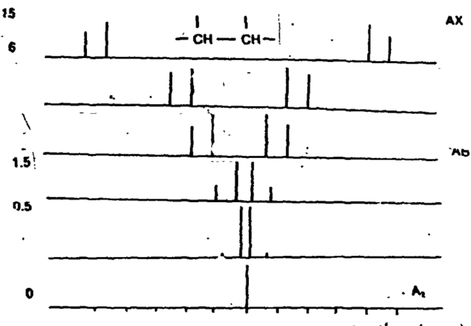
عند ٤,٣ تدل علي أنها متصلة بمجموعة ساحبة للألكترونات (النيـــترو) أي أنها في صورة $-CH_2-NO_2$ أما الامتصاص الأول (δ= ١) يمثـــل ٣ ذرات H لذا يكون يقسم لثلاث انقسامات أي أنها متصلة بكربون مشبع (CH_3-CH_2) أمـا الامتصاص الواقع عند ٢δ فينقسم إلي٦ أقسام مما يدل علي وجود٥ ذرات H مجاورة أي مجموعة ميثيل من جانب ومجموعة ميثيلين من جانب أخر $-CH_2-$ CH_2-CH_2 وعليه يكون تركيب الجزيئ $CH_3CH_2CH_2NO_2$ ، شكل رقم (٥-٦).



شكل رقم (٥-٥) : طيف مركب من الدرجة الأولي ($C_3H_7NO_2$)

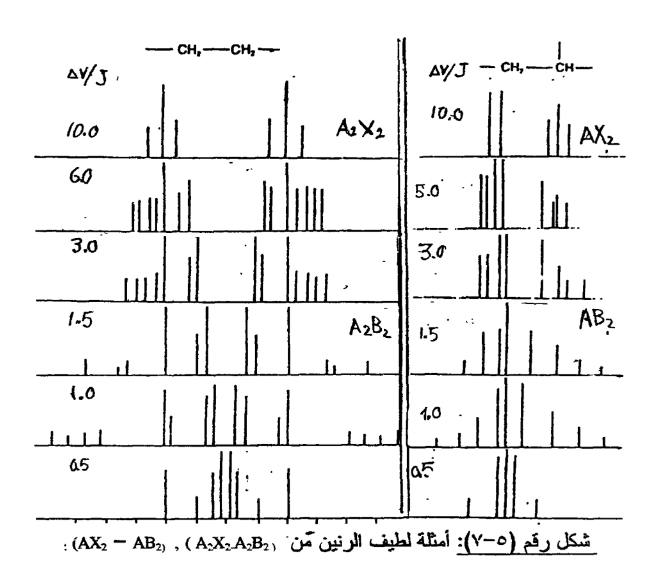
٣-يلاحظ من الطيف السابق أن الفرق في قيمة δ بين الامتصاصـــات أكـبر بكثير من الفرق بين الأنقسامات الدقيقة لكـل امتصـــاص (أي الفــرق فــي الانتقال الكيميائي كبير أما في حالة قرب الامتصاصات من فإنه يؤدي لتغــير شكل الانقسامات والتي تتزايد بقرب الامتصاصات مـــن بعضــها حتــى إذا أصبح الفرق بينها أقل من ١٠ أضعاف الفرق بين الانقسامات الخاصة بكــل امتصاص فإن شكل الامتصاص يتغير وبقلة هذا الفرق فــي قيمــة ($\Delta\delta/J$) فإن الامتصاصات تصبح معقدة ولا تتبع العلاقة $n+1$ حيث تختفي بعـــض الانقسامات أو تظهر انقسامات جديدة وهذا ما يعرف بطيف الامتصاص مـــن الدرجة الثانية .

ويوضح هذا الشكل رقم (٥-٦) امتصاص كل منهما منقســـم الــى قســمين وبقرب المسافة بينهما يظهر التأثير على شكل الامتصاص الـــى ان يصبـــح امتصاص واحد عند ($\Delta V / J=0$) :



شكل رقم (٥-٦) : تأثير قرب الامتصاصات على شكل انقساماتها.

وللسهولة تقسم الأنواع المختلفة من الهيدروجينات في الجـــزيء إلـــى أقسام يرمز لها بحروف الهجاء (A,B,...X,Y,Z) فإذا كان الاختــلاف صغــير جدا توضع في صورة AB وإذا زاد الفرق قليلاً اصبح . AC ثم AM أمـــا إذا كان الفرق كبير في قيمة الانتقال الكيميائي فتصبح AX فمثـــلا إذا احتـــوى مركب على ٣ أنواع متقاربة من الأيدروجين فيوضع في قسم ABC إمــــا إذا احتوي علي ثلاثة مجاميع مختلفة نسبياً فيوضع في قســـم AMX وإذا وجـــد أكثر من ذرة أيدروجين في كل مجموعة فيوضح عددها برقم في يمين أســفل الحرف فمثلا النوع A_2B يمثل جزئ به ثلاثة ذرات من الأيدروجين اثنيـــن منهم من نفس النوع والثالثة مختلفة عنهم أما النوع A_2MX فـــهو لمركـــب أو جزئ من مركب يحتوي علي ٤ ذرات أيدروجين أثنين مـــن نفـس النـــوع واثنين مختلفان عن بعضهما ومختلفان عن الباقي كما فـــي الشـــكل الســـابق كمثال لمجموعة AB وتدرجها إلي مجموعة AX

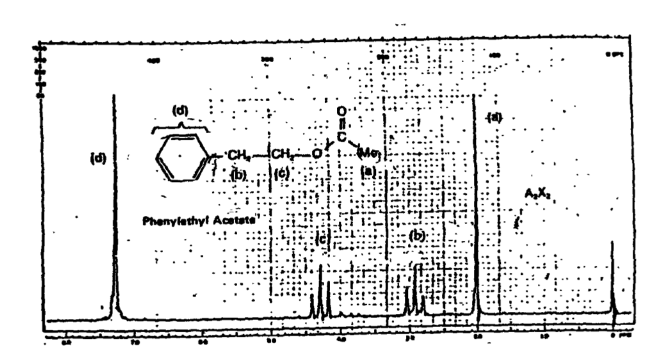


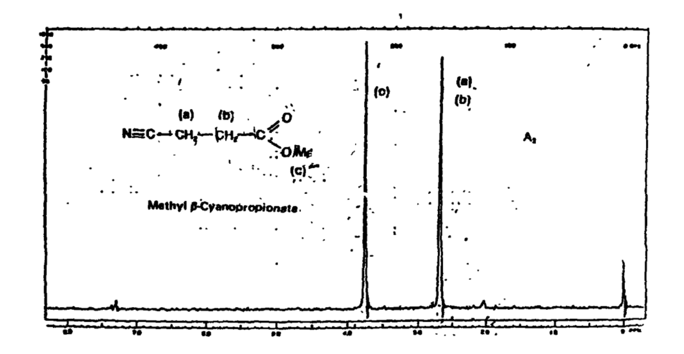
شكل رقم (٥-٧): أمثلة لطيف الرنين من (A_2X_2, A_2B_2) , ($AX_2 - AB_2$):

أما شكل رقم (٥-٨) فيوضح أمثلة لبعض من المركبات التي بها مجاميع من النوع A_2B_2, A_2X_2, A_2 ومن هذه الأمثلة يتضح أن طيف الترددات المغناطيسية قد يستغرق وقت قصير لتفسيره كما هو واضح من المجموعة A_2X_2 أو قد يستلزم عديد من الحسابات والمجهود الذي يصل إلى أسابيع لتفسير بعض الامتصاصات المعقدة.

٤-فيحتوي المركب على مجموعة الليل (hb Allyl−C-C=C − Ha) فقد يوجب انقسام بين الذرتين a,b بالرغم من بعدهم عن بعض بأربعة روابط كيميائية إلا أن ثابت الانقسام بهذا النوع صغير (صفر – ٣ هرتز).

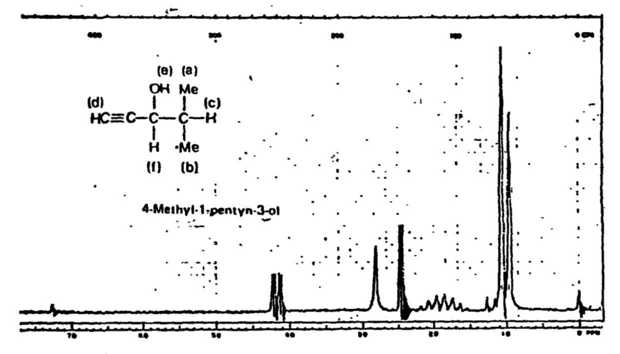
٥- يلاحظ في المركبات المحتوية على رابطة ثلاثية مثل Hb − C ≡ C − Ha يلاحظ أن هناك انقسام بين ذرتي a,b H بالرغم من انفصالهم عن بعض





<u>شكل رقم (٥-٨)</u> : طيف لبعض المركبات المحتوية على مجاميع A_2B_2, A_2X_2 , A_2

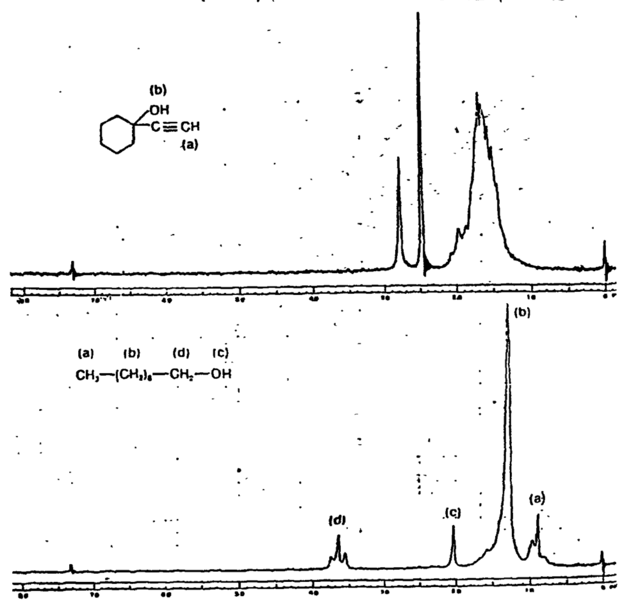
بأربعة روابط كيميائية ويكون أوضح في هذه الحالة عما سبق ذكره في مركبات (Allyl) حيث أن ثابت الانقسام في هذه الحالة (١-٥ هرتز) ويسمي هذا النوع من الانقسام (long rdnge coupling) وفي بعض الحالات يحدث نتيجة التوزيع الفراغي للمجاميع والذرات بالجزيء أن بعض المجاميع تبدو متكافئة تماما حيث أنها في الواقع صورة مرآة للمجموعة الأخرى (Diastereomers) كما يتضح من المركب : ٤-ميثيل ١-بنتاين-٣-أول فنجد أن مجموعتي الميثيل في هذا المركب غير متكافئين فواحدة منهم صورة مرآة للأخرى وبهذا يظهران علي قيم مختلفة من δ كذلك ينقسمان علي الذرة HC كما موضح بشكل (٥-٩)



شكل رقم (٥-٩) : طيف الرنين لمركب -ميثيل ١-بنتاين-٣-أول

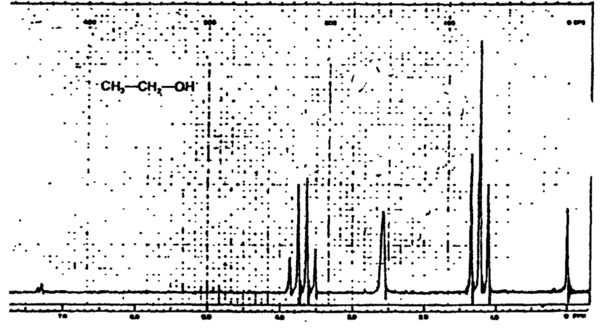
٦-في حالة مشتقات البنزين المحتوية علي مجموعة أو مجموعات ساحبة للإليكترونات أو مجموعات معطية لها فأن الأيدروجين الموجود علي حلقة البنزين يصبح غير متكافئ فيؤدي لظهور الامتصاص الخاص بحلقة البنزين في صورة عدة امتصاصات منقسمة داخليا حسب موضع الاستبدال وفي كلا الحالتين فإن الهيدروجينات الموجودة في الوضع بارا و أورثو تكون أكثرها تأثراً بنوع المجاميع الأستبدالية علي الحلقة.

٧-يلاحظ في المركبات العضوية المحتوية على سلسلة طويلة أن مجاميع الميثيلين الوسطية تتشابه في ظروفها الكيميائية أو قيمة δ مما يؤدي لظهورها في صورة امتصاص واحد أو امتصاصات مفلطحة يكون من الصعب تفسيرها بالطرق العادية أما المجاميع في نهاية السلسلة فيسهل التعرف عليها ويسمي هذا النوع من الانقسامات المفلطحة في السلاسل الطويلة بأسم (Virtual coupling_) ، شكل رقم (٥-١٠) .



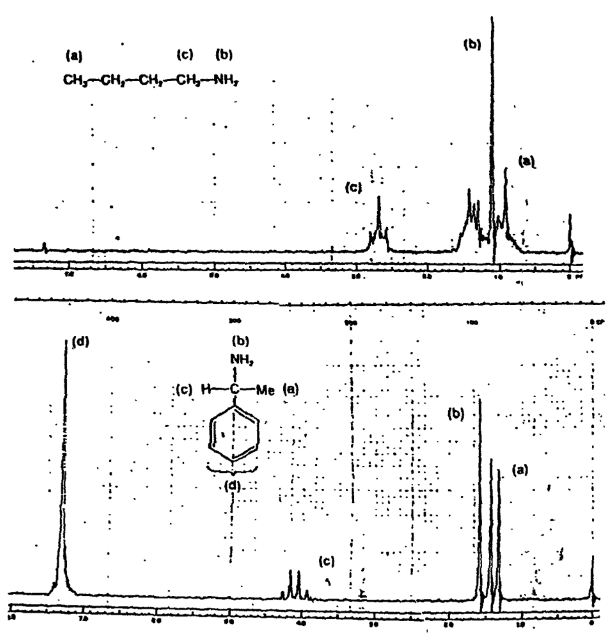
شكل رقم (٥-١٠) : امتصاصات مفلطحة (Broad) كمثال ل Virtual coupling

٨-في المركبات العضوية المحتوية علي مجموعة هيدروكسيل نجد أن الهيدروجين المتصل بالأكسيجين سريع الاستبدال كما أنه يرتبط بروابط هيدروجينية مع مجاميع فعالة أخري وبدرجات متفاوتة وعليه فأن موضع الامتصاص له يتغير حسب ظروف التحليل حيث قد يظهر في أي موضع من قيمة δ حيث يظهر الامتصاص الخاص بذرة H بصورة امتصاص ذري بينما مجموعة الميثيلين المجاورة لمجموعة الهيدروكسيل تنقسم إلي انقسامات رباعية متأثرة بمجموعة الميثيل المجاورة لها وإذا كان كحول الإيثيل علي درجة نقاوة عالية فأن ذلك يؤدي لانقسام الامتصاص الخاص بمجموعة الهيدروكسيل لثلاث انقسامات كذلك انقسام الامتصاص الخاص بمجموعة الميثل المجاورة إلي انقسامات عديدة ، شكل رقم (٥-١١) .



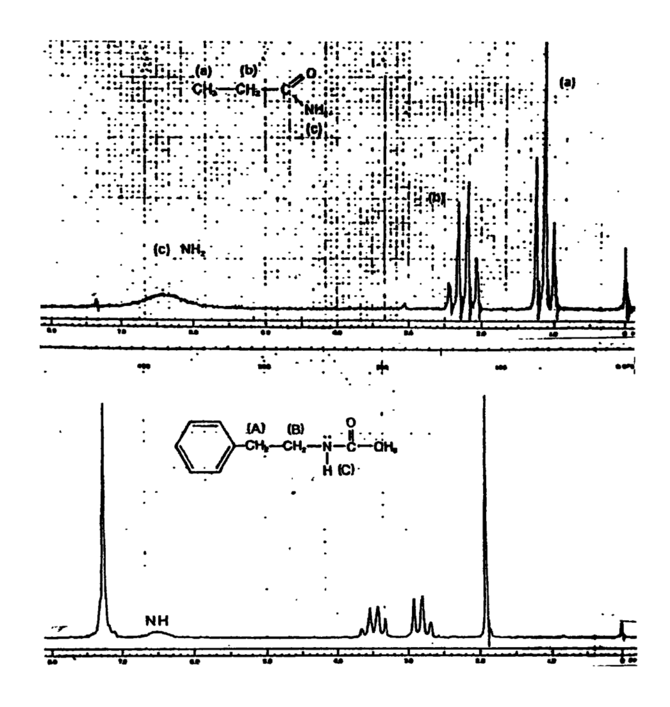
شكل رقم (٥-١١) : طيف الرنين للإيثانول

٩-المركبات العضوية المحتوية علي مجموعة أمين نجد أن الهيدروجين المتصل بالنيتروجين يكون سريع الاستبدال فلا يحدث انقسامات للهيدروجينات المجاورة وتظهر مجموعة الأمين في صورة امتصاص غير منقسم وعند إضافة حامض إلي الأمين يتحول إلي ملح أمونيوم ويقف الاستبدال وتظهر الامتصاصات منقسمة تبعا لعدد ذرات الأيدروجين المجاورة شكل (٥-١٢).



شكل رقم (٥-١٢) :طيف الرنين للأمينات الأليفاتية والعطرية

١٠-أما في حالة وجود مجموعة الأمين في المركب علي صورة أميد فــأن سرعة استبدال الهيدروجين تبطئ جدا وبالتالي تؤدي لانقسامات لامتصــاص الذرات المجاورة ولكن نظرا لأن النيتروجين له خــواص مغناطيســية فــإن الهيدروجين المتصل به مباشرة كما هو الحال في (N-H) يظهر في صــورة امتصاص مفلطح، شكل رقم (٥-١٣).



<u>شكل رقم (٥-١٣)</u> : طيف الرنين للأميدات الأليفاتية والأروماتية

ونتيجة دراسة امتصاص الجزئيات في طيف الرنين النـــووي (N.M.R) يمكن التوصل لمعرفة التركيب الكيميائي للجزئيات وخاصة ما يلي:

- من معرفة قيمة الإنتقال الكيميائي يمكن التوصل إلـــي تحديـد نـــوع الهيدروجين الموجود من حيث الكثافة الإليكترونية المحيطة به وبالتـــالي طبيعة المجاميع الفعالة الموجودة بالجزئي.

- من مساحة الامتصاص يمكن تحديد الأعداد النسبية لذرات الأيدروجين الموجودة.
- من عدد الانقسامات الموجودة في كل امتصاص يمكن التوصل إلى وضع المجموعة الفعالة في الجزيء بالنسبة للمجاميع الأخرى.

تجهيز العينات :

وتجهز العينات بصورة محاليل في مذيبات مخلقة لا تحتوي على مثل رابع كلوريد الكربون أو Trifluoro Deutrobenzene, Deutrochloroform, D2O, Acetic Acid بإذابتها في المذيب المناسب وبتركيز حوالي ١٠% بالوزن وتوضع في أنابيب الجهاز والتي توضع بدورها في الجهاز حيث تلف حول نفسها بحركة دورانية سريعة حتى يتم تعرض جميع الجزيئات الموجودة للمجال المغناطيسي بدرجة واحدة .

الباب السادس

طيف الكتلة

مطياف الكتلة

طيف الكتلة (Mass Spectrometry)
ومطياف الكتلة(Mass spectrometer)

يؤدي امتصاص الجزئيات للأشعة الأشعة فوق البنفسجية إلي حدوث انتقالات إليكترونية من مدارات منخفضة في الطاقة إلي مدارات عالية في الطاقة في نفس الجزيء .

ويؤدي امتصاص الجزئيات للأشعة تحت الحمراء إلي حدوث تغيرات في الحركة الدورانية للجزيئات كذلك في الروابط الكيميائية المكونة للجزيء من حيث طولها أو الزوايا فيها.

- أما إذا تعرض الجزيء إلي مصدر عالي جداً من الطاقة مثل شعاع من الإليكترونات فإن ذلك يؤدي إلي انفصال أحد الإليكترونات من الجزيء فصلا تاماً ويتحول الجزيء إلي أيون يحمل شحنة موجبة وزنه يساوى وزن الجزيء مطروحاً منه وزن الإليكترون المفقود أي يمثل الوزن الجزيء حيث أن وزن الإليكترون صغير جداً ويمكن إهماله . كما قد تحدث تغيرات أخري للجزيء بعد تأينه فقد يتكسر إلي أيونات أصغر أو قد يحدث له تغيرات في تركيبه الكيميائي متخذاً بذلك صوراً جديدة له . وهذا ما يحدث في أجهزة طيف الكتلة حيث تتعرض جزئيات المادة إلي شعاع من الإليكترونات تؤدي إلي تأين الجزيء وتكسيره إلي أيونات أصغر وزنا وبتحليل هذه الأيونات الناتجة يمكن التوصل إلي التركيب الكيميائي لتلك المادة أي أنه بدراسة طيف الكتلة يمكن الوصول لمعرفة كاملة للتركيب الجزيئ:
- تمييز الأيون الجزيئي (Molecular ion) .
- وتقدير الوزن الجزيئي (Molecular weight: M.) .
- والصيغة الجزئية (Molecular formula) .
- وتحديد التركيب الجزيئي (Molecular structure) .
- كذلك تحليل كتل الأيونات الصغيرة الناتجة عن تكسير الأيون الجزيئ متوقفة علي طاقة الروابط (فالروابط الضعيفة أكثر تعرضاً لعملية التكسير عن الروابط القوية) .

ويعد مطياف الكتلة من أعقد الأجهزة الإليكترونية والميكانيكية في تركيبها وتشغيلها رغم بساطة الفكرة المبني عليها تصميم الجهاز والذي يتركب من الأجزاء التالية :

١-وحدة وضع العينات:

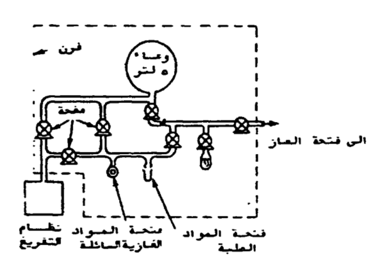
يحتوي الجهاز علي أكثر من نظام لإدخال العينات وفي جميع الحالات تحول المواد للصورة الغازية في وعاء خاص سعته ٥ لتر ويكون الضغط به أكثر مرتين عن مثيله في حجرة التأيين لضمان انتقال العينة لوعاء التأين حيث يوجد عداد دقيق لقياس الضغط (Micro manometer) بين وحدة وضع العينة ووعاء التأين لتقدير كمية العينة الداخلة لحجرة التأين .
ويوجد فتحتين لإدخال العينات ، شكل رقم (٦-١) :

١-١-فتحة إدخال العينات الغازية والسائلة (Gas & Liquid inlet):

فتحقق المواد الغازية بحقنة صغيرة فتمر داخل وعاء العينة . أما المواد السائلة فيتم إدخالها بماصة صغيرة (micro pipette) خلال قرص زجاجي متلبد (Sintered glass disc) أو يتم الحقن بمحقن خلال حاجز من المطاط أو السيليكون وبالنسبة للسوائل التي درجة غليانها < ١٥٠° م فإن كمية مناسبة منها سوف تتحول للصورة البخارية علي درجة حرارة الغرفة نتيجة الضغط المنخفض بوعاء العينة . وتسخين وحدة العينة إلي ٢٠٠°م يزيد من الاستفادة في تقدير المواد القطبية وتتوقف درجة الحرارة علي تركيب المادة ودرجة ثباتها حيث تتحل حراريا المواد المحتوية علي الأكسجين أو النتروجين علي درجات حرارة أكثر من ٢٠٠°م) .

١-٢-فتحة إدخال العينات الصلبة (Solid volatilization inlet) :

تدخل مباشرة العينات الصلبة التي درجة انصهارها أقل من درجة الحرارة بوعاء العينة حيث تحمل العينة بأنبوبة شعرية مناسبة الطول لموضع بمسافة عدة ملليمترات خلال مصدر الأيونات بواسطته بروب (probe) ثم تسخن ليتكون ضغط تجاري مناسب يمكن الكشف عنه بواسطة مؤشر تيار الأيونات أو بظهور الطيف.



شكل رقم (٦-١) : وحدة وضع العينات

٢-حجرة التأين (Ionization chamber)

وتتركب من الأجزاء الموضحة بشكل رقم (٦-٢) فبحقن العينة في الجهاز يتم تحويل لحالتها الغازية من خلال تسخينها تحت تفريغ في حدود 10^{-6} ملليمتر زئبق وبدخول أبخرة المادة في حجرة التأين تتعرض الجزئيات لحزمة من الإليكترونات السريعة لها طاقة كبيرة جداً تصل إلي ٨-١٥ إليكترون فولت وحتى ١٦١٤ كيلو كالورى إليكترون فولت وهي تمثل الحد الأدنى اللازم لعملية التأين وانفصال إليكترون أو أكثر من الجزيء فتتكون أيونات جزيئية (شق حر كاتيوني (Radical cation) يحتوي علي رابطة بها إلكترون واحد أو أزيل منة إلكترون في مدار لا يدخل في تكوين رابطة كيميائية أو في ذرة غير كربونية (CL, S, N, O)) ويحتوي علي طاقة عالية لكون الجزيء في مستوى طاقة إلكتروني اهتزازي مرتفع يؤدي لتكسير روابط ضعيفة فتتكون أيونات صغيرة (Fragment ions) أو تؤدي لإعادة الترتيب في الأيون الجزيء : $M + e \longrightarrow M^{+} + 2e$

ويجب اختيار مصدر التأين المناسب لكل عينة وأن تكون كفاءته عالية حتى يتسنى لجزء كبير من العينة المتعادلة أن تتأين خاصة إذا كانت معها

شوائب في العينة الصلبة وقد يلزم لبعض العينات أيونات طاقتها الإليكترونية منخفضة حتى لا تتكسر هذه للأيونات .

ويقوم مصدر التأين بوظيفتين: تأين الجزئيات دون التفرقة بين كتل الأيونات المختلفة ثم تعجيلها إلي وحدة تحليل الأيونات.

وعموماً يكون الناتج بوعاء التأين أيونات موجبة في صورة مخلوط من الأيون الجزيئ المساوي في الوزن الجزيئ للمركب الأصلي لضاءلة وزن الإليكترون بالإضافة لبعض الأيونات الناتجة من التكسير أو من أعاده ترتيب الأيون الجزيئ وأيونات ناتجة عن وجود بعض النظائر في تركيب الجزئيات ويكون وزنها أكبر من الوحدة بوحدة أو أكثر عن الأيونات المحتوية علي النظير الأخر وطاقتها الحركية متساوية تقريباً لكنها تختلف عن بعضها في شبة الكتلة للشحنة ويتم نقلها وتتم عملية التأين بإحدى الطرق التالية :

٢-١-التأين بالتصادم الإليكتروني: (Electron impact ionization :EI)

حيث يدخل تيار المادة في صورتها الغازية لوحدة التأين المفرغة من الهواء (ضغطها ٠,٠٠٥تور وحرارتها٢٠٠-٠,٢٥ °م) فتتعرض الجزئيات لحزمة إليكترونات طاقتها مرتفعة ٧٠ إليكترون فولت من فتيل (Filament) مسخن كهربيا (حيث يمكن التحكم في عدد الإليكترونات بتغيير درجة حرارة الفتيل أما طاقتها فيتحكم فيها بتغيير فرق الجهد) تتحرك عمودياً علي اتجاه سير الجزئيات بفرق الجهد فتأينها بالتصادم الإليكتروني لأيونات موجبة الشحنة تتحرك للأمام بتنافرها مع الشحنات علي لوحة مشحونة إليكتروستاتيكيا خلف الأيونات كطارد لها ثم تزداد سرعتها أكثر بتعرضها لفرق جهد عالي ثم يتم تركيزها في حزمة صغيرة تدخل لوحدة فصل الأيونات. وبفرض جزيء رمز ABCD حيث تمثل هذه الحروف ذرات :

$$ABCD \xrightarrow{e} ABCD^+ \xrightarrow{2e} A^+ + BCD^*$$

$$ABCD^+ \longrightarrow AB^+ + CD^* \longrightarrow A^+ + B^* \;;\; A^* + B^+$$

$$AB^* + CD^+ \longrightarrow C^+ + D^* \;;\; C^* + D^+$$

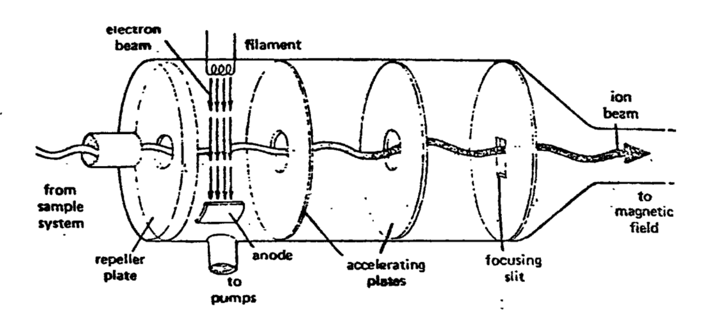
تكسير Fragmentation

$$ABCD^+ \longrightarrow AD + BC^* \;;\; AD^* + BC$$

إعادة ترتيب متبوعة بتكسير Rearrangement followed by fragmentation

$$ABCD^+ + ABCD \longrightarrow ABCDA^* + BCD^*$$

تصادم مصحوب بتكسير



شكل رقم (٦-٢) : حجرة التأين

وقد تتكون أيونات سالبة (لاتحاد الجزئيات المتعادلة مع الإليكترونات) فتمتص علي اللوحة المعدنية الموجبة الأولي كذلك قد تتكون أيونات أخري موجبة تحمل شحنتين أو ثلاث لفقد الجزيء أثنين أو ثلاثة إليكترونات (احتمال ضئيل) .

وتكوين الأيونات بالتصادم الإليكتروني غير مناسبة للجزئيات غير الثابتة فتتكسر لأيونات أصغر وأدق وقد يختفي الأيون الجزيئي كلية وهنا يجب وأن تكون العينة في الحالة البخارية كما أن وجود كمية قليلة من الغازات لعدم التفريغ الكامل يؤدي لتأينها وظهورها بالطيف .

٢-٢-التأين الكهربي (Electric ionization):

فتتأين الجزئيات عند أقترابها لسطح معدني في مجال كهربي عالي ١٠ ^٨ فولت/ سم فتسحب الإليكترونات من الجزئيات للقطب الموجب مؤدية إلي تكوين أيونات جزئية موجبة مع حدوث عدد قليل جدا من التكسير وقد لا يحدث ومن هنا يمكن تقدير الوزن الجزيئي والرمز الجزيئ والتقدير الكمي وله أهميته في دراسة ظواهر السطوح (Surface phenomena) كالأمتصاص أو التفاعلات التي تتم بالسطح (Surface reaction).

٢-٣-التأين الكيميائي (I) Chemical ionization:

وهنا تصل العينة مع كمية من غاز الميثان عند ضغط واحد تور فيتأين لتعرضه لحزمة إليكترونات ويتكون CH_3^+ CH_4^+ تتفاعل بدورها مع جزئيات الميثان:

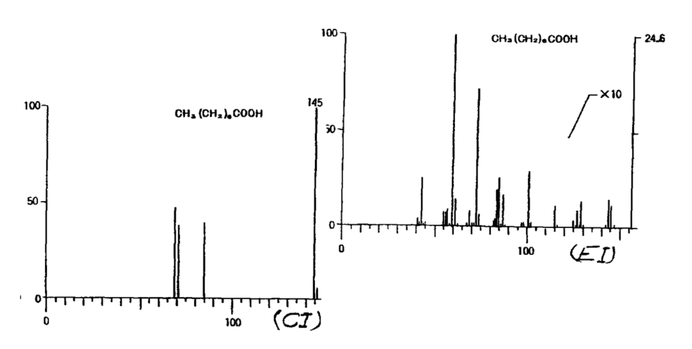
$$CH_4^+ + CH_4 \longrightarrow CH_5^+ + CH_3$$
$$CH_3^+ + CH_4 \longrightarrow C_2H_5^+ + H_2$$

ثم تتفاعل مع جزئيات العينـــة R – H وتتكـــون أيونـــات $R\text{-}H_2^+$ فتفقـــد الهيدروجين لتعطي أيونات R^+ وبعض الأحيان يظهر الأيون RH_2^+ وكتلتـــه أكبر من كتلة الأيون الجزيئ بواحد (M+1) وبذلك يمكن معرفة كتلة الأيـــون الجزيئ RH_2^+ شكل رقم(٦-٣)

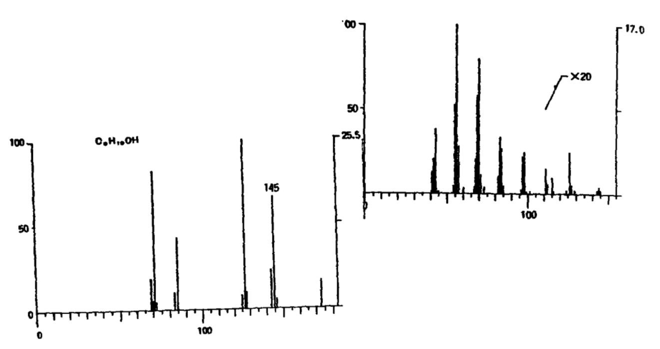
$$CH_5^+ + R-H \longrightarrow RH_2^+ + CH_4$$

$$C_2H_5^+ + R-H \longrightarrow RH_2^+ + C_2H_4$$

وهي طريقة مناسبة للجزيئات غير الثابتة فلا تتكسر،شكل رقـــم (٦-٤) ويقلل الميثان طاقة الجزيئات فمعظم التفاعلات تتـــم بيـــن جزيئـــات المـــادة وأيونات الميثان التي توجد بتركيز مرتفع بدلاً من تأين الجزيئـــات مباشـــرة بحزم الألكترونات. ونظراً للتفاعل مع أيونات الميثان ينتـــج عنـــه أيونـــات طاقتها أقل فإن طاقة الأيونات الجزيئية تكون منخفضة.



شكل رقم (٦-٣): طيف الكتلة لحمض Caprylic بأستخدام طريقة التأين بالتصادم الالكتروني (EI) والتأين الكيميائي (I) ويشاهد اختلاف الكثافة مع تشابه الوزن الجزيئ.



شكل رقم (٦-٤): طيف الكتلة للأيونات الجزيئية للكحولات باستخدام طريقة التأين بالتصادم الإليكتروني (Ei) الكيميائي (I) حيث يلاحظ اختلاف الامتصاص والكشف لأيونات OM^+ بها.

وعمليات التأين سواء كانت إلكترونيا أو كيميائيا أو كهربيا تعطي نفس النتيجة من حيث تكوين أيون موجب وزنه يساوي الوزن الجزئي إلا أن الأيون الناتج يختلف في محتواه من الطاقة حسب طريقة التأين فأيون التأين الإليكتروني (Electron Ionization, E.I) غالباً ما يحتوي علي طاقة داخلية أكبر بكثير من مثيله بالطرق الكيميائية أو الكهربية وهذا يؤدي لتكسير الأيون إلي أيونات أصغر وقد يؤدي إلي اختفاء الأيون الجزيئ تماماً في بعض المركبات العضوية وهنا تظهر أهمية التأين الكيميائي أو الكهربائي حيث تعطي غالباً أيون جزيئ ثابت احتمال تكسيره منخفض .

وعموماً فإن عملية التأين تعطي أيونات في صورة مخلوط من أيونات بعضها يمثل الأيون الجزيئ والباقي ناتج عمليات تكسيره أو الأيونات الناتجة من التحرير أو التغير في التركيب الكيميائي للأيون الناتج ويكون الناتج هو خليط من أيونات محملة بشحنة موجبة ذات نسب مختلفة من الكتلة للشحنة أي (m/e) .

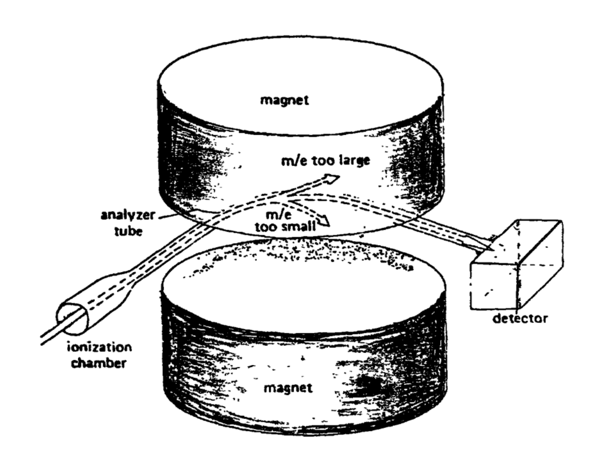
وتختلف أقسام المركبات العضوية المختلفة في درجات ثبات الأيون الجزيء لها فبعضها يعطي أيون جزيء سهل التكسير وبالتالي فان نسبة

الأيون الجزيء في المخلوط تكون صغيرة أو لا تعطي أيون جزيء والبعض الأخر يعطي أيون جزيء ثابت لا ينكسر بسهولة وبالتالي تكون نسبة الأيون جزيء بمخلوط الأيونات كبيرة ويمكن ترتيب أقسام المركبات العضوية تنازليا حسب نسبة الأيون الجزيئي في مخلوط الأيونات الناتجة كآلاتي :
المركبات الآروماتية>الألكينات المرتبطة>المركبات الحلقية>الكبريتيدات العضوية>الهيدروكربونات الغير متفرعة>الميركابتان>الكيتونات>الأمينات> الأسترات>الإيثيرات>الأحماض الكربوكسيلية>الألكانات المتفرعة >الكحولات

٣–وحدة فصل الأيونات: محلل الكتلة (Mass analyzer) :

ويتم هذا الجزء من جهاز طيف الكتلة تفريد الأيونات حسب كتلتها والشحنة المحملة عليها حيث :

- يحتاج الأيون إلى $١٠^{-٥}$ ثانية ليصل لوحدة القياس دون تكسير أما إذا قلت عن ذلك فيحدث تكسير وتتكون أيونات أصغر في وجود رابطة زوجية تؤدي لدرجة عالية من ثبات الأيون الجزيئي كما يتوقف تركيب الأيونات الصغيرة علي موضع انفصال الروابط بالجزيء وعلي درجة ثبات هذه الأيونات (أما الروابط الحقيقية فاكثر عرضة للتكسير) وعليه فنسبة ونوع الأيونات الصغيرة يوضح الطاقة النسبية للروابط وثباتها يعكس قدرتها علي استيعاب الشحنات الموجبة والمتوقعة علي درجة الاستقطاب أو التشويه الإليكتروني لهذه الأيونات .
- ويتم فصل الأيونات الناتجة من وعاء التأين علي أساس اختلاف نسبة الكتلة (m) / الشحنة (e) وبذا يمكن رصد وتسجيل هذه الأيونات كل علي حدة بوحدة التسجيل حيث يوجد العديد من طرق الفصل للأيونات المتقاربة في الكتلة والتي تتراوح بين جزء في العشرين إلي جزء في ٣٠٠٠٠حيث يعبر عن كفاءة الفصل (Resolution : R) بالقدرة علي تمييز الكتل المختلفة حيث كفاءة الفصل (R) = كتلة الأيون(M)/ الفرق بكتلة أيونين لهما نفس كثافة الطيف(ΔM)
- وتتوقف كفاءة الفصل علي ضبط الجهاز وفتحتي دخول وخروج الأيونات لوحدة الفصل (فالكفاءة دالة لقطر الفتحة) كذلك درجة التجانس في مصدر الأيونات .



<u>شكل رقم (٦-٥)</u> : تحليل الأيونات في المجال المغناطيسي

ويوجد عدة طرق لعملية فصل الايونات نذكر منها:

٣-١-الفصل باستخدام الإنحراف في مجال مغناطيسي:

يعتمد انحراف الأيونات الموجبة علي النسبة (m/e) وبدرجات مختلفة بمجال مغناطيسي حيث تتخذ مسارا دائريا نتيجة للتوازن بين قوة الطرد المركزي وقوة الجذب المغناطيسية(Fm) :

- **فقوة الطرد المركزي الناتجة عن المسار الدائري للأيون (Fc) = (m) كتلة الأيون . (V^2) مربع سرعته/ (r) نصف قطر المسار الدائري**
- **فقوة الجذب المغناطيسية المركزية (Fm) = شحنة الأيون(e) /سرعته (V)**
- **وتكون طاقة حركة الأيون (Kinetic energy : E) = e = (شحنة الأيون) v (الجهد المستخدم في التعجيل بغرفة التأين)= ½ V^2m**
- **سرعة إلكترون هي .. $M / Ve^2 = V$**

وحيث أن قوة الطرد المركزي Fc = قوة الجذب المركزي المغناطيسيFc

$BeV = mV^2 / r$ وبالتعويض عن قيمة السرعة V

$m/e = B_2r_2 / 2r$

أي انه عند ثبات الجهد (v) وشدة المجال المغناطيسي والأيونات المختلفة في قيمة (m/v) تأخذ مسار دائري يختلف في قيمة (r) وعليه فالأيونــات التــي يكون مسارها الدائري مطابقا مع أنبوبة التحليل تصل لوحــدة القيــاس أمــا الأيونات الأخرى فيكون مسارها أنبوبة التحليل وتتعادل ويتــم ســحبها مــن وحدة التحليل وعليه فالمجال المغناطيسي يقوم بعزل الأيونات لحزم تختلــف في قيمة (m/e)

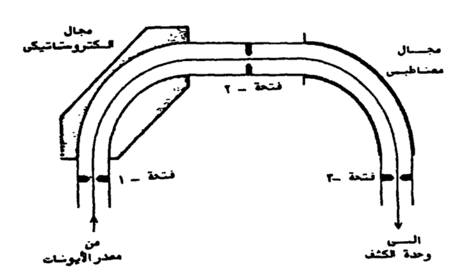
وللحصول علي الطيف يغير الجهد بمعدل ثابت فتصل الأيونات لوحــدة التسجيل بالتتابع الصغيرة فكبيرة الكتلة . واستخدام المجال المغناطيسي فــي الفصل ينتج عنه فصل الأيونات المختلفة عــن بعضــها بمقــدار الوحــدة . فالأجهزة المعتمدة علي استعمال مجال مغناطيســي قــوي تعتمــد علــي أن الأيونات الموجبة تحت تأثير مجال مغناطيسي قــوي تتخــذ مســارا دائريــا فتتحول في صورة منحني دائرة نصف قطرها يعتمد علي كتلة الأيون وشحنة وقوة المجال المغناطيسي وفرق الجهد المستعمل ولهذا تصمم أجهزة طيــف الكتلة بحيث يأخذ المجال المغناطيسي شكل نصف دائــرة ذات قطــر ثــابت وبتثبيت قوة المجال المغناطيسي وتغير فرق الجهد للأيونات فإنها تخرج مــن الجهاز علي صورة مفردة حسب نسبة الكتلة للشحنة وبالتالي يمكن الحصــول علي نفس النتيجة بتثبيت فرق الجهد وتغير قوة المجال المغناطيسي.

٣-٢-الفصل باستخدام التركيز البؤري المزدوج (Double focusing analyzer) :

فتمر الأيونات الخارجة من وحدة التأين علي المجال الكــــهربي مــن الفتحة الأولي فيقوم المجال الكهربي بفصل الأيونات بناء علي طاقتــها إلــي حزم :تركيزها بؤريا (Focusing) قبل فصلها بالمجال المغناطيسي خاصة مــع الجزئيات المتباينة في طاقتها الحركية. وعند الفتحة الثانية والتي تعمل كنقطــة بداية لفصل الأيونات ذات الطاقة المتساوية بناء علي نسبة (m/e) ، شكل رقم (٦-٦) :

٣-٣-الفصل البؤري الدائري (Cycloidal focusing analyzer) :

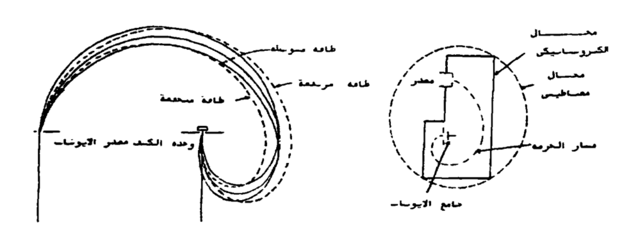
يستخدم مجال كهربي عمودي علــي مجــال مغناطيســي فتتعــرض الأيونات للمجال الكهربي المغناطيسي في نفس الوقت تأخذ مســـارا دائريــا ونظرا لخواص التركيز البؤري المزدوج (سرعة + اتجاه) فـــإن الأيونــات



شكل رقم (٦-٦) :الفصل بالتركيز البؤري

(m/e) والخارجة من وحدة التأين والتي لها طاقة حركة مختلفة أو زوايا اتجاه مختلفة تأخذ مسارات دائرية مختلفة لكنها تصل جميعاً لوحدة القياس وبتغير شدة أحد المجالين فإن الأيونات تصل لوحدة القياس بالتتابع بناء على (m/e) حيث : k = m/e (ثابت) B^2 (شدة المجال المغناطيسي)/$V.\pi^2$ (الجهد الكهربي).

وهنا يمكن تقدير الأيونات التي كتلتها ١٠-٢٠٠٠ وكفاءة فصل تصل ١٠٠٠ ، شكل رقم (٦-٧)

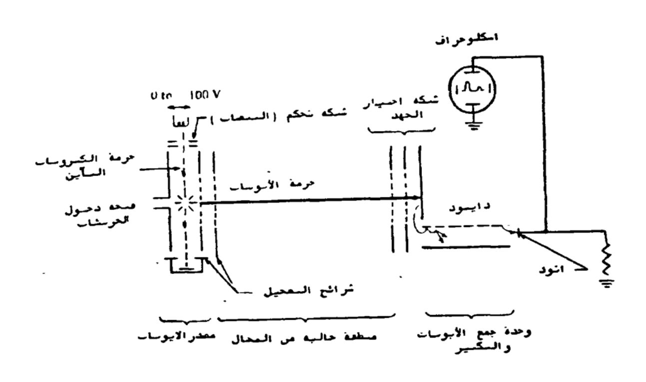


شكل رقم (٦-٧) : الفصل البؤري الدائري

٣-٤-وحدات فصل تعتمد علي اختلاف سرعة الأيونات :

تختلف الأيونات في كتلتها ولكن لها نفس طاقة الحركة في سرعتها: ($V^2m \frac{1}{2} = E$) وبذلك تختلف الأيونات في الوقت المستغرق من وحدة التـــأين لوحدة القياس.

وهنا يتم قذف الجزئيات بنبضات قصيرة من الإليكترونات لفترة صغـيرة بالميكرو ثانية فتسير الأيونات الناتجة بسرعة تعجيليه بمجال كهربي موجـــود بين فتحتين للتسريع فتصل طاقة حركة الأيونات إلي ٢٧٠٠ إليكترون فولـــت في مسافة أقل من ٢سم.ونظراً لأن الأيونات تحتوي علي نفس طاقة الحركـــة فإن سرعتها تتناسب عكسياً مع الجذر التربيعي للكتلة وهنا يسمح للأيونـــــات بالانتقال لمنطقة خالية من أي مجال طوله ١ متر فترتب حسب كتلتها فتكـــون الأيونات صغيرة الكتلة بالمقدمة تليها الأكبر في الكتلة وهكذا وهنا تصطـــــدم بتسلسل كتلتها علي القطب السالب لوحدة القياس ، شكل رقم (٦-٨) وحـــــدة الفصل المعتمدة علي اختلاف سرعة الأيونات.



شكل رقم (٦-٨) : وحدة فصل تعتمد علي اختلاف سرعة الأيونات

ويحسب الوقت المستغرق لقطع مسافة قدرها (L) هي (t)=

$$(1/2V)^{1/2} = (m/e)^{1/2} \quad L=t$$

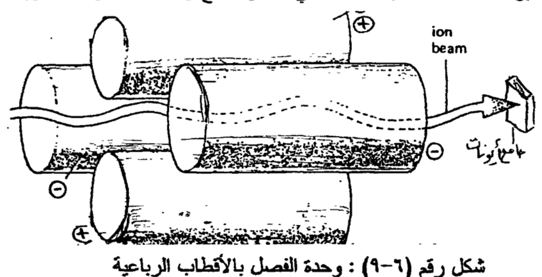
ويتلاءم هذا النوع في دراسة التفاعلات السريعة أو مـع المركبـات الناتجة من الكروماتوجرافي الغازي حيث يمكن أعاده عمـل طيـف الكتلـة ٢٠٠٠٠مرة / ثانية (الطيف الكامل يتكون خلال ٥٠ميكروثانية).

فإذا كانت مدة حياة الأيون الجزيئي في حدود ١٠ ثانية يحدث تكسـير فـي الجزيء في المنطقة بين حجرة التأين ووحدة الفصل (المنطقة الحاليـة مـن المجال المستخدم في الفصل (field free region) ويتكون أيون أصغر وجزيـئ متعادل $M^+ \rightarrow m^+ + m_1$ حيث أن طاقة M^+ أقل من طاقة الأيونات بحجـرة التأين ولذا يسلك سلوك مخالف وتظهر في صورة خط ضعيف مفلطح وكتلتـه ليست رقم صحيح ويطلق عليها الأيونات شبه المستقرة(metastable ion) :

$m^* = (m^+)^2 / m^+$ ويمكن الإستفادة من ظهوره في معرفة طيف الجزئيات.

٣-٥-الفصل بالأقطاب الرباعية :

وذلك بواسطة مجال ناتج عن أربعة أقطاب كهربية ، شكل رقم (٦-٩) : قطبان قطر كل منهما (r) وموضوع- طريقة متماثلة حـول مماس دائـرة قطرها (ro) بحيث يكون (r = 1.16 ro) ثم يوصل كل زوج من هذه القضبـان بجهد متساوي ولكن مخالف في الاتجاه وكل جهد يتكـون مـن عنصريـن إحداهما تيار مستمر والآخر فولت للتردد السمعي فيظهر نتيجة ذلك بالمنطقـة بين هذه الأقطاب جهد متذبذب في صورة قطع زائد (hyper bolic potential) .



<u>شكل رقم (٦-٩)</u> : وحدة الفصل بالأقطاب الرباعية

ونتيجة لذلك تسير الأيونات في خط موازي للأقطاب يحدث لها تذبذب بين الأقطاب وسعة هذه الحركة التذبذبية تتوقف علي نسبة (m / e) فبعض الأيونات تمر لنهاية المجال ومنه لوحدة القياس دون الإصطدام بأحد الأقطاب أما الأيونات الأخرى فلها حركة تذبذبية غير مستقرة وتصطدم بأحد الأقطاب ويتغير كل من جهد التيار الكهربي المستمر وجهد التردد السمعي مع ثبات التردد وبتغير البارامترات الكهربية يمكن إمرار الأيونات المختلفة في قيمة (m/e) كل علي حدة بالتتابع.

وقدرة الجهاز علي التفرقة بين الأيونات القريبة من بعضها في كتلتها (Resolution : R) التي يمكن حسابها بالمعادلة $R = (m/\Delta m)$ و(m) هي كتلة الأيون و (Δm) هي الفرق في الكتلة بين الأيون والأيون التالي له في الكتلة ولهذا تقسم أجهزة طيف الكتلة إلي نوعين :

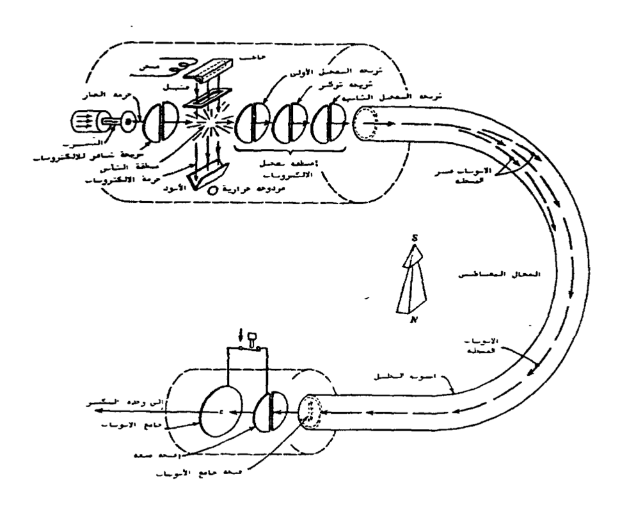
النوع الأول : ذو قوة فصل منخفضة وفيه قيمة (R) في حدود ٢٠٠٠
والنوع الثاني :ذو قوة فصل عالية وفيه تصل قيمة(R) إلي ١٠٠٠٠ أو أزيد.

٤-وحدة جمع الأيونات وقياسها :

تخرج الأيونات من فتحة صغيرة بوحدة الفصل إلي وحدة الكشف القياسي بالتتابع حسب النسبة(m/e) بإحدى الطرق : فقد تستقبل الأيونات علي سطح معزول (قفص فاراداي Faraday cage) بمجرد اصطدام الأيون الموجب بجامع الأيونات فيلتقط منه أحد الإليكترونات ويتكون تيار إليكتروني صغير $10^{-6}-10^{-11}$ أمبير في اتجاه الجامع (Collector) يتم تكبيره ، شكل رقم (٦-١٠) .

وتعرض نتائج التحليل في صورة تسجيل كتابي بالأوسيلوجراف (Oscillograph) باستخدام ٣-٥ جلفانومتر مختلفة في درجة حساسيتها. أو تستخدم لوحة فوتوجرافية (Photographic plate) وتعطي درجة أفضل للقياس الإليكتروني خاصة وأنها تعد جهاز متكامل زمني (time integrating device) فهي أكثر أجهزة القياس حساسية ويمكن الكشف بها عن كميات صغيرة.

أي أنه بغض النظر عن نوع الجهاز المستخدم في تفريد الأيونات حسب كتلتها وشحنتها فأن الأيونات الخارجة تصل إلي جهاز القياس (Detector) والذي يقوم بقياس تركيز الأيونات الواصلة له علي جهاز التسجيل (Recorder)



شكل رقم (٦–١٠) :تخطيط يوضح الأجزاء الرئيسية بجهاز مطياف الكتلة.

ونجد أن الرسم البياني لطيف الكتلة يربط العلاقة بين (m/e) للأيونات وتركيزها فموضع الخطوط بالإحداثي الأفقي يوضح قيمة (m/e) للأيونات المختلفة إما ارتفاع الخط فيعبر عن التركيز النسبي للأيون هذا بالإضافة إلي ظهور النتائج في صورة جدول يوضح كتلة الأيونات وتركيزها.. كما موضح بخصائص طيف الكتلة لمركب التلوين ، شكل رقم (٦ – ١١).

خصائص الطيف (كمثال التلوين):
١-ظهور الأيون الجزيئي الناتج من فقد إليكترون واحد (m/e : 92) وغالبا ما يأخذ الرمز M أو M* ويتوقف تركيزه طرديا مع درجة ثباته وقد لا يظهر علي الإطلاق نتيجة تكسيره.
٢-الأيون الذي يعطي أعلي تركيز يسمي بالأيون الأصل ويأخذ القيمة ١٠٠ وينسب له باقي الأيونات الأخرى كنسبة مئوية أما الأيون الناتج من فقدان المادة لإليكترون واحد فهو الأيون الجزيئي (Molecular Ion)
٣-وجود عدد كبير من الأيونات كتلتها < كتلة الأيون الجزيئي تنتج من تكسيره أو من إعادة ترتيبها في الأيون لذا فعددها وكثافتها دالة في تركيب.
٤-وجود عدة أيونات كتلتها > كتلة أيون الجزيئ أما بوحدة (m + 1) =93 أو بوحدتين (2+m) = 94 أو بأربع وحدات (m+4) = 97 ويلاحظ أن تركيزها صغير جدا بالنسبة للأيون الجزيئي وترجع ظهورها للنظائر الطبيعية .
٥-قد يظهر أيون ظاهري مؤقت يختلف في سلوكه عن الأيونات الأخرى ويستفاد منه في التعرف علي تركيب المركب.
٦-ظهور أيون كتلته > كتلة الأيون الجزيئي وتركيزه مرتفع ويناهض تركيز الأيون الجزيئي أو أكثر ولا يرجع وجودة للنظائر ولكنة نتيجة عملية التصادم بين الجزئيات أو الأيونات مع انتقال أحد المجاميع الكيميائية للأيون الجزيئي.
٧-معظم الأيونات في الطيف تحمل شحنة موجبة أحادية ولكن قد يحمل بعضها شحنتين أو أكثر ولا يمكن تميزها إلا بالتحليل الكامل بطيف الكتلة.

معلومات هامة تؤخذ في الاعتبار عند تفسير طيف الكتلة:
١-توجد العناصر الكيميائية طبيعيا في صورة مخاليط من نظائر مختلفة التركيز حسب نفس العنصر فالهيدروجين وزنة الذري ١ ويكون مختلط مع هيدروجين وزنة الذري ٢ بنسبة ٠,٠١٦%. وهذا يفسر أن الأوزان الذرية للعنصر لا تمثل الرقم الصحيح وذلك لوجود النظائر المشقة
ويوضح الجدول التالي الأوزان لبعض العناصر المنتشرة في المركبات العضوية.

جدول (٦-١): الأوزان الذرية لبعض عناصر المركبات العضوية.

العنصر	الوزن الذري	النظير الذري	الكتلة
Hydrogen	**1.00797**	^{1}H	**1.00783**
		^{2}H	**2.01410**
Carbon	**12.01115**	^{12}C	**12.00000**
		^{13}C	**13.00336**
Nitrogen	**14.0067**	^{14}N	**14.0031**
		^{15}N	**15.0001**
Oxygen	**15.9994**	^{16}O	**15.9949**
		^{18}O	**17.9992**
Fluorine	**18.9984**		
Phosphc.us	**30.974**		
Sulfur	**32.064**	^{32}S	**31.9721**
		^{33}S	**32.9715**
		^{34}S	**33.9679**
Chlorine	**35.453**	^{35}Cl	**34.9689**
		^{37}Cl	**36.9659**
Bromine	**79.909**	^{79}Br	**78.9183**
		^{81}Br	**80.9163**

وعلي ذلك يلاحظ من طيف الكتلة ظهور أيونات وزنها يكـــون أعلـــي مـــن الوزن الجزيئي بما يساوي ١ أو ٢ وحدة وزنة وهذا راجـــع إلـــي النظـــائر الذرية للعناصر المكونة للجزيء.

٢-تجد أن الأيون الجزيئ محمل بطاقة عالية وتختلف درجة ثباتـــه حســـب تركيبة الكيميائي فإذا ظل هذا الأيون كما هو لفترة تزيد عن ١٠ $^{-٥}$ ثانية فأنـــه يصل إلي الجهاز الخاص بتحليل الأيونات دون أن يحدث له تكسير لأيونـــات أصغر في الكتلة أما إذا كان عمر الأيون الجزيئ أقل من ١٠ $^{-٥}$ ثانيـــة فأنـــه غالباً ما ينكسر إلي أيونات أصغر تسمي (Fragment Ions) ومن هذه الأيونـــات يمكن التوصل إلي معلومات كثيرة عن التركيب الكيميائي للمادة أما إذا كـــان

عمر الأيون الجزيئ في حدود 10^{-6} ثانية فأنها لا تتكسر في جهاز التأين وإنما تتكسر أثناء مرورها من جهاز التأين إلي جهاز تحليل الأيونات وتعطي أيونات أصغر وزنا تختلف عن الأيونات المتكونة في جهاز التأين حيث تحتوي علي طاقة أقل بكثير فتسلك مسلكا مخالفا عنها وتظهر علي صورة أشكال مفلطحة وفي العادة تظهر بكتلة ذات رقم غير صحيح ولا تظهر إلا في أجهزة طيف الكتلة المغناطيسية وتفيد هذه الأيونات في التعرف علي التركيب الكيميائي .

تقدير الوزن الجزيئي من طيف الكتلة:

في بعض الحالات يقدر الوزن الجزيئي للمادة من طيف الكتلة باعتبار أن الأيون ذو أعلي كتلة يمثل الأيون الجزيئي مع إهمال الأيونات الناتجة من النظائر الثقيلة والتي تكون نسبتها ضئيلة جدا وبافتراض أن الأيون الجزيئي لا يتكسر بدرجة كبيرة .

ومن الملاحظات الهامة التي يجب مراعاتها عند تقدير الوزن الجزيئي المركبات العضوية المحتوية علي عدد زوجي من ذرات النيتروجين أو التي لا تحتوي علي نيتروجين بالمرة فإن وزنها الجزيئي يكون رقم زوجي دائما أما المركبات المحتوية علي عدد فردي من ذرات النيتروجين فأن وزنها الجزيئي رقم فردي دائما (نظرية النتروجين) .

وأجهزة طيف الكتلة ذات قوة الفصل العالية تحدد الوزن الجزيئي لخامس رقم عشري وهذا يفيد في حالة بعض المركبات المتشابه في الوزن الجزيئي فيساوي ٦٠ للمركبات (C_3H_8O & $C_2H_8N_2$ & $C_2H_4O_2$ & CH_4NO_2) حيث تختلف عن بعضها في الأرقام العشرية من الثاني إلي الخامس (60.05754 & 60.06884 & 60.02112 & 60.03242) أما في الأجهزة ضعيفة الفصل فيمكن تقدير الرمز الجزيئي من طيف الكتلة بدراسة الأيونات الخاصة بالنظائر الذرية الثقيلة في المركب فالأيثان وزنة الجزيئي ٣٠ ولكن يظهر أيون أخر عند الكتلة ٣١ نتيجة دخول عنصر الكربون ١٣ بنسبة ٢.٢% لوجود ذرتين كربون بالجزيء وعلي ذلك فإن الأيون الجزيئي لغاز الإيثان يظهر عند ٣٠ (M^+) مع ظهور أيون أخر عند ٣١ (M+1) بنسبة ٢,٢٦% من تركيز الأيون الجزيئ عند ٣٠ أما احتمال وجود ذرتين من الكربون ١٣ في نفس الجزيئ (M+2) فاحتمال ضئيل .

ويمكن حساب نسبة الأيون (M+1) والأيون (M+2) منسوبة للأيون (M+1) من المعادلات الآتية:

% (M+1) = ١.١ عدد ذرات الكربون + ٠,٠١٦ × عدد ذرات الأيدروجين + ٠,٣٨ × عدد ذرات النتيروجين.

% (M+2) = (١.١ × عدد ذرات الكربون)٢ + (٠,٠١٦ × عدد ذرات الأيدروجين) + ٠,٢ × عدد ذرات الأكسجين

وبالتالي يمكن التفرقة بسهولة بين المادتين والجدول التالي (٦-٢) يفـرق بين أول أكسيد الكربون والنيتروجين والأيثلين والتي تشـترك جميعـها فـي الوزن الجزيئ = ٢٨ من خلال الاعتماد علي نسبة الأيونات.

جدول (٦-٢): نسبة الأيونات الجزيئية لأول أكسيد الكربون والنيتروجين والأيثلين.

Relative Intensities			Compound
M	M+1	M+2	
100	1.12	0.2	CO
100	0.76	0.0	N2
100	2.23	0.01	C2H4

ونجد أنه بكبر حجم الجزيـئ تـزداد أهميـة الأيونـات (M+1) . (M+2) للاستعانة بها في تحديد الرمز الجزيئ للمركب حيث يوضح الجـدول (٦-٣) نسبة هذه الأيونات في تركيبات مختلفة من المركبات العضوية.

جدول رقم (٦-٣): الأوزان الجزيئية لبعض المركبات العضوية ونسبة النظائر الثقيلة لها.

MW	M + 1	M + 2
16		
CH_4	1.15	
17		
NH_3	0.43	
18		
H_2O	0.07	0.20
26		
C_2H_2	2.19	0.01
27		
CHN	1.48	
28		
N_2	0.76	
CO	1.12	
C_2H_4	2.23	0.01
29		
CH_3N	1.51	
30		
CH_2O	1.15	0.20
C_2H_6	2.26	0.01
31		
CH_5N	1.54	
32		
O_2	0.08	0.40
N_2H_4	0.83	
41		
C_2H_3N	2.59	0.02
42		
CH_2N_2	1.88	0.01
C_2H_2O	2.23	0.21
C_3H_6	3.34	0.04
43		
C_2H_5N	2.62	0.02
44		
N_2O	0.80	0.20
CO_2	1.16	0.40
C_2H_4O	2.26	0.21
C_3H_8	3.37	0.04
45		
CH_3NO	1.55	0.21
C_2H_7N	2.66	0.02
46		
NO_2	0.46	0.40
CH_2O_2	1.19	0.40
C_2H_6O	2.30	0.22
47		
CH_5NO	1.58	0.21
48		
CH_4O_2	1.22	0.40
52		
C_4H_4	4.39	0.07
53		
C_3H_3N	3.67	0.05
54		
C_4H_6	4.42	0.07
55		
C_3H_5N	3.70	0.05
56		
$C_2H_4N_2$	2.99	0.03
C_3H_4O	3.35	0.24
C_4H_8	4.45	0.08
57		
C_3H_7N	3.74	0.05
58		
$C_2H_2O_2$	2.27	0.42
$C_2H_6N_2$	3.02	0.03
C_3H_6O	3.38	0.24
C_4H_{10}	4.48	0.08
59		
C_2H_5NO	2.66	0.22
C_3H_9N	3.77	0.05
60		
$C_2H_4O_2$	2.30	0.04
$C_2H_8N_2$	3.05	0.03
C_3H_8O	3.41	0.24
61		
CH_3NO_2	1.59	0.41
C_2H_7NO	2.69	0.22
62		
CH_2O_3	1.23	0.60
$C_2H_6O_2$	2.34	0.42

تابع جدول رقم (٦-٣) :

64		
CH_4O_3	1.26	0.60
66		
C_5H_6	5.50	0.12
67		
C_4H_5N	4.78	0.09
68		
C_4H_4O	4.43	0.28
C_5H_8	5.53	0.12
69		
C_4H_7N	4.82	0.09
70		
$C_3H_2O_2$	3.35	0.44
$C_3H_6N_2$	4.10	0.07
C_4H_6O	4.46	0.28
C_5H_{10}	5.56	0.13
71		
C_4H_9N	4.85	0.09
72		
$C_3H_4O_2$	3.38	0.44
$C_3H_8N_2$	4.13	0.07
C_4H_8O	4.49	0.28
C_5H_{12}	5.60	0.13
73		
C_3H_7NO	3.77	0.25
$C_4H_{11}N$	4.88	0.10
74		
$C_3H_6O_2$	3.42	0.44
$C_3H_{10}N_2$	4.17	0.07
$C_4H_{10}O$	4.52	0.28
75		
$C_2H_5NO_2$	2.70	0.43
C_3H_9NO	3.81	0.25
76		
$C_2H_4O_3$	2.34	0.62
$C_2H_8N_2O$	3.09	0.24
$C_3H_8O_2$	3.45	0.44
77		
$C_2H_7NO_2$	2.73	0.43
C_5H_6O	5.54	0.32
C_6H_{10}	6.64	0.19
83		
C_5H_9N	5.93	0.15
84		
$C_4H_4O_2$	4.47	0.48
$C_4H_8N_2$	5.21	0.11
C_5H_8O	5.57	0.33
C_6H_{12}	6.68	0.19
85		
C_4H_7NO	4.86	0.29
$C_5H_{11}N$	5.96	0.15
86		
$C_4H_6O_2$	4.50	0.48
$C_4H_{10}N_2$	5.25	0.11
$C_5H_{10}O$	5.60	0.33
C_6H_{14}	6.71	0.19
87		
$C_3H_5NO_2$	3.78	0.45
C_4H_9NO	4.89	0.30
$C_5H_{13}N$	5.99	0.15
88		
$C_4H_8O_2$	4.53	0.48
$C_4H_{12}N_2$	5.28	0.11
$C_5H_{12}O$	5.63	0.33
89		
$C_3H_7NO_2$	3.81	0.46
$C_4H_{11}NO$	4.92	0.30
90		
$C_3H_6O_3$	3.46	0.64
$C_3H_{10}N_2O$	4.20	0.27
$C_4H_{10}O_2$	4.56	0.48
91		
$C_2H_5NO_3$	2.74	0.63
$C_2H_9N_3O$	3.49	0.25
$C_3H_9NO_2$	3.85	0.46
92		
$C_3H_8O_3$	3.49	0.64

وفي حالة احتواء المادة علي عناصر أخري بخلاف N, O, C, H كوجود عناصر الكلور أو البروم فأن ذلك يؤدي إلي زيادة كبيرة في الأيون (M+2) كما تظهر أيونات أخري (M+4) ، (M+6) تبعا لنوع وعدد ذرات الهالوجين في الجزيئ.

كما أن دخول عنصر الكبريت في تركيب المادة يؤدي إلي ظهور أيونات عند (M+2) بنسبة ٤.٤% لكل ذرة كبريت في الجزيئ.

وأيضا فأن دخول عنصر السيليكون يعطي أيونات عند (M+1) بنسبة ٥,١% وعند (M+2) بنسبة ٣,٣٥% لكل ذرة سيليكون بالجزيئ.

وبالإضافة إلي إمكانية تعيين الرمز الجزيئي للمركب من طيف الكتلة فأن دراسة الأيونات الأخرى الناتجة عن تكسير أو أعاده ترتيب الأيون الجزيئي يمكن التوصل منها إلي عديد من المعلومات عن التركيب الكيميائي للمادة تحت الدراسة.

ميكانيكية عملية تكسير الأيونات :

نجد أن عملية تأين الجزيئات ينتج عنها الأيون الجزيئي وذلك بفقد الجزيئي لإليكترون واحد (أيون يحتوي علي عدد فردي من الإليكترونات فجميع المركبات العضوية تحتوي علي عدد زوجي) وبالتالي فإن الأيون الجزيئي هو شق كاتيوني (Radical Cation) يحتوي هذا الأيون علي طاقة داخلية عالية تؤدي إلي تكسيره لأيونات أصغر وزنا وأكثر ثباتا ذات عدد زوجي من الإليكترونات : أيون كاربونيوم (Carbonium Ion) . أما إذا فقد الأيون الجزيئي مجموعة متعادلة أصبح الأيون الناتج محتويا علي عدد فردي من الإليكترونات كالأيون الجزيئي . ويسلك الأيون الموجب الناتج سلوك أيونات الكاربونيوم من حيث مدي ثباته ويمكن ترتيب أيونات الكاربونيوم حسب درجة ثباتها ترتيبا تصاعديا:

$$CH_3^+ < RCH_2^+ < R_2CH^+ < R_3C^+ < CH_2{=}CH{-}CH_2^+ < C_6H_5CH_2^+$$

أي أن أيون الكربونيوم المتصل بحلقة بنزين مباشرة أكثر ثباتا من أيون الميثيل وبمعني آخر أن عمر أو طول مدة بقاءه أكبر بكثير من الثاني. وعلي ذلك فعملية تكسير الأيون الجزيئ أو إعادة توزيعه داخليا تؤدي إلي أيونات

أخري أكثر ثباتا منه فالأيون الجزيئ بفقده لأصول حـــره (Free Radical) أو لجزئ متعادل يتخلص من قيمة كبيرة من طاقتة الداخلية ويصبح أكثر ثباتا.

ويلاحظ عند تفسير طيف الكتلة :

- الهيدروجينات المكربنة المشبعة ذات السلاسل الطوليـة تعطـي أيون جزيئي واضح وبزيادة تشعب السلسلة تقـل كثافـة الأيـون الجزيئي وقد يختلف تماما كما فـي حالـة مركـب (٢، ٢ ، ٤ – تراي ميثيل بنتان) ويلاحظ وجود أيونات بكتلـة (٤٣، ٢٩) فـي حالة البيوتان وبكتلـة (٨٥ ، ٧١ ، ٥٧ ، ٤٣ ، ٢٩) فـي حالـة الأوكتان كما يلاحظ وجود أيونات تربية أيضا بكل مجموعة مـن الأيونات السابقة فمثلا عند الأيون ٢٩ لكل من البيوتان والأوكتـان توجد أيونات كتلتها (٢٨ ، ٢٧ ، ٢٦).والسلاسل الكربونية الغـير متفرغة تعطي أيون جزيئ (كاربونيوم أول) عند تكسـره يعطـي أيونات أصغر تكون من نفس النوع ومن هنـا لا يوجـد اسـتفادة كبيرة من عملية التكسير وهذا يفسر ظهور الأيون الجزيئـي فـي المركبات المشبعة غير المتفرعة أما في حالة السلاسل الكربونيـة المتفرعة فأنه عند تكسر الأيون الجزيئ يعطي أيـون كـاربونيوم ثاني أو ثالث أكثر ثباتا وهذا يفسـر إعطائـها لجزيـئ ضعيـف التركيز عند المقارنة بالمركبات ذات سلاسل المسـتقيمة ويلاحـظ في الأيدروجينات المكربنة المشبعة ذات التركيب الحلقـي وجـود الأيون بتركيز عالي نسبيا.

- الهيدروجينات المكربنة غير المشبعة تعطي أيون جزيئ واضـح وظهور أيون كتلته ٤١ (Allyl carbonium Ion) وفي حالـة وجـود الرابطة الزوجية في تركيب حلقي فأن الأيون الجزيئ يظهر بكثافة أعلا عن المركبات غير الحلقية وتظهر أيونـات تمثـل التفـاعل العكس لديلز ألدر لوجود رابطة زوجية في حلقة سداسية .

- تتشابه المركبات الألكاين مع مركبات اللكين من حيـث تأينـها حيث تعطي أيون جزيئي واضح كذلك تعطي أيون عند الكتلة ٣٩.

- تتميز المركبات العطرية بأن الأيون الجزيني شديد الكثافة وفي حالة وجود سلسلة جانبية على حلقة البنزين تعطي أيون أخر عالي الثبات عند كتلة ٩١ أما وجود مجموعتين ألكيل على الحلقة يعطي أيون أخر كتلته ١٠٥ أما في حالة وجود سلسلة كربونية طويلة (٣ ذرات أو أكثر) على الحلقة فيظهر أيون أخر كتلته ٩٢. ولا يمكن التفرقة بين المشابهات الموضعية على الحلقة حيث أنها تعطي نفس طيف الكتلة .

- تعطي الكحولات أيون جزيئي ضعيف جدا أو غير موجود كما في الكحولات المحتوية على ذرات كربون أما الكحولات البنزينية أو العطرية فتعطي أيون جزيئ واضح أما الفينولات فتتميز بفقدها لجزيئ CO بسهولة كتلته ٢٨

- تتشابه الأيثرات مع الكحولات إلا أنها تعطي أيون جزيئي أكثر نسبيا في التركيز كما تعطي مجموعة من الأيونات عند (٣١ ، ٤٥ ، ٥٩ ، ٧٣) ولا تعطي مركبات الأسيتال أيون جزيئ بالمرة.

- تعطي الألدهيدات أيون جزيئ قد يكون ضعيف ولكن يمكن التعرف بسهولة على الألدهيد من طيف الكتلة نتيجة فقدان الألدهيد لذرة هيدروجين أو مجموعة الألكيل المتصلة مباشرة بمجموعة الألدهيد أما الألدهيدات العطرية فتعطي أيون جزيئي شديد التركيز وأيون أخر ناتج عن فقد ذرة هيدروجين الألدهيد وأخر ناتج عند فقد المجموعة CHO .

- تعطي الكيتونات أيون جزيئ واضح وتتشابه مع الألدهيدات في طريقة تكسيرها حيث تفقد أحد المجاميع المتصلة بالكيتون وغالباً تكون الأكبر حجماً وقد يحدث إعادة ترتيب للجزيء إذا وجدت سلسلة بها على ذرات كربون أو أكثر.

- تعطي الأسترات أيون جزيئي ضعيف وأهم نواتج التكسير انفصال مجموعة الكوكسيد تاركة أيون موجب (R CO+) أو أنفصال مجموعة الألكيل تاركة أيون أخر (R OC=O) وفي حالة إسترات الميثيل تعطي أيون جزيئي ضعيف جداً حيث يختفي في الكحولات الأكبر من كحول البيوتيل وبالإضافة إلي الأيونات السابقة فقد تظهر أيونات من الإسترات بتركيب ($RCOOH_2^+$) بأوزان (٦١ ، ٧٥ ، ٨٩، .. الخ).

- تعطي الأحماض العضوية أيون جزيئي ضعيف وأهم نواتج التكسير فقد مجموعة (−O H) أو مجموعة (−COOH) كما قد تنفصل مجموعة الألكيل من الحامض معطية الأيون COOH (+وكتلته ٤٥ وهو من أهم مميزات وجود مجموعة كربوكسيل بالجزيئ . وفي الأحماض العطرية يظهر الأيون الجزيئ بوضوح ومن نواتج التكسير المميزة ظهور الأيون ($C_6H_5CO^+$) بكتلة ١٠٥ والأيون (C_6H_5+) وفي حالة وجود مجموعة CH_3− في الوضع أورثو لمجموعة الكربوكسيل فأن الحامض يفقد جزيئ ماء ويعطي أيون كتلته (M-18) .

- من المركبات النيتروجينة نجد أن الأمنيات غير العطرية تعطي أيون جزيئ ضعيف جداً وقد لا يظهر في بعض الحالات وفي الأمينات الأولي يظهر أيون مميز عند الكتلة ٣٠ (CH2=NH2) بخلاف الأيون الجزيئ أما مركبات الأمين الثانية والثالثة فتعطي أيون مميز أخر عند ٥٨ للأمين الثاني ، ٨٦ للأمين الثالث أما مركبات النيتروجين الحلقية المشبعة أو العطرية فأنها تعطي أيون جزيئ واضح يزداد تركيزه بزيادة عدم التشبع .

- ونجد أن إلي الاميدات تعطي أيون جزيئ واضح مع وجود أيون بكتلة ٤٤ (NH_2-C=O) يدل علي وجود أميد أول وما هو جدير بالذكر عدم إعطاء النتريلات لأيون جزيئ حيث تفقد ذرة هيدروجين واحدة بسهولة معطية أيون كتلته (M-1) وتركيبة

أما المركبات العطرية فتعطي أيون جزيئ عالي التركيز مع انفصال مجموعة السيانيد معطية أيون كتلته (M-26) وكذلك يلاحظ انفصال جزيئ (M-27) ولا تعطي مركبات النيترو المشبعة أيون جزيئ أما مركبات النيترو العطرية فتعطي أيون جزيئ واضح مع اعطاء بعض أيونات (NO^+ NO_2^+).

- المركبات الكبريتية (Thiols) تفقد جزيئ (H_2S) معطية أيون كتلته (M-34) أما الأثيرات الكبريتية (Thioethers) تتشابه مع الأيثرات إلا أنها تعطي أيون جزيئ أكثر وضوح.

- تتميز المركبات الألوجينية بظهور أيون جزيئي بدرجة كبيرة في مشتقات اليود ثم تقل في الدرجة مركبات البروم ثم الكلور أما مركبات الفلور فتعطي أيون جزيئي ضعيف ومن أهم طرق تكسيرها هي فقدها لذرة هالوجين من المركب معطية أيون كتلته تساوي الوزن الجزيئي مطروح منه الوزن الذري للهالوجين المفقود وفي المركبات العطرية يزداد تركيز الأيون الجزيئي ويجب الأخذ في الاعتبار النظائر الذرية الثقيلة لعنصري الكلور والبروم عند تفسير طيف الكتلة للمركبات الهالوجنية حيث يلاحظ وجود أيونات بكتله (M+2, M+4, M+6..) وهذا لا يلاحظ مع مركبات اليود والفلور حيث لا توجد لها نظائر ثقيلة بدرجة محسوسة.

ويوضح الجدول رقم (٦-٤) أمثلة لكتلة الأيونات الناتجة من عمليات التكسير وكذلك أوزان بعض المجاميع التي قد تنفصل من الأيون الجزيئ أثناء عملية تكسيره.

جدول (٦-٤): كتلة بعض الأيونات الشائعة في طيف الكتلة.

الكتلة m/e	الأيون	الكتلة m/e	الأيون

66 (cyclopentadienyl radical cation) $\equiv C_5H_6$

67 C_5H_7

68 $CH_3CH_2CH_2C\equiv N$

69 C_5H_9, CF_3, $CH_3CH{=}CHC{=}O$, $CH_2{=}C(CH_3)C$

70 C_5H_{10}

71 C_5H_{11}, $C_3H_7C{=}O$

72 $C_2H_5C(=O)CH_3$ + H, $C_3H_7CHNH_2$, $(CH_3)_2N{=}C{=}O$, $C_2H_5NHCHCH_3$, and isomers

73 Homologs of 59

74 $CH_3{-}C(=O){-}OCH_3$ + H

75 $C(=O){-}OC_2H_5$ + 2H, $CH_2SC_2H_5$, $(CH_3)_2CSH$, $(CH_3O)_2CH$

77 C_6H_5

78 C_6H_5 + H

79 C_6H_5 + 2H, Br

80 (pyrrole)$-CH_2$, CH_3SS + H

81 (furan)$-CH_2$, C_6H_9, (cyclohexenyl)

82 $CH_2CH_2CH_2CH_2C\equiv N$, CCl_2, C_6H_{10}

83 C_6H_{11}, $CHCl_2$, (thiophene)

85 C_6H_{13}, $C_4H_9C{=}O$, $CClF_2$

86 $C_3H_7C(=O)CH_3$ + H, $C_4H_9CHNH_2$, and isomers

87 C_3H_7CO (C=O), homologs of 73, $CH_2CH_2C(=O)OCH_3$

88 $CH_3{-}C(=O){-}OC_2H_5$ + H

89 $C(=O){-}OC_3H_7$ + 2H, (benzene)$-C$

90 CH_3CHONO_2, (benzene)$-C$

91 (benzene)$-CH_2$, (benzene)$-CH$ + H, (benzene)$-C$, $(CH_2)_4Cl$, (benzene)$-N$

92 (pyridine)$-CH_2$, (cyclohexadienone)$=O$, (benzene)$-CH_2$

93 CH_2Br, (benzene)$-OH$, C_7H_9, (pyrrole)$=C$, (benzene)$-O$, C_7H_9 (ter

94 (benzene)$-O$ + H, (pyrrole, N–H)$-C{=}O$

تابع جدول (٦-٤): كتلة بعض الأيونات الشائعة في طيف الكتلة.

الأيون	الكتلة m/e	الأيون	الكتلة m/e
furan-2-yl C=O	95	$C_6H_5CH_2O$, $CH_3C_6H_4OH$ (p-), $CH_3C_6H_4OH$ (o-)	107
$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2C{\equiv}N$	96	$C_6H_5CH_2O$ + H, N-methylpyrrol-2-yl C=O	108
C_7H_{13}, thiophen-2-yl CH_2	97	cyclohexenyl C=O	109
furan-2-yl CH_2O + H	98	thiophen-2-yl C=O	111
C_7H_{15}, $C_6H_{11}O$	99	CF_3CF_2	119
$C_4H_9C(=O)CH_2$ + H, $C_5H_{11}CHNH_2$	100	$C_6H_5C(CH_3)_2$, CH_3CH–C_6H_4–CH_3, C=O–C_6H_4–CH_3	119
$C(=O)$–OC_4H_9	101	$C_6H_4(C=O)O$	120
$CH_3C(=O)$–OC_3H_7 + H	102	C=O–C_6H_4–OH, OCH_3–C_6H_4–CH_3, C_9H_{13} (terpenes)	121
$C(=O)$–OC_4H_9 + 2H, $C_5H_{11}S$, $CH(OCH_2CH_3)_2$	103		
$C_2H_5CHONO_2$	104		
$C_6H_5C{=}O$, $C_6H_5CH_2CH_2$	105		
$C_6H_5NHCH_2$	106		

جدول رقم (٦-٥) : كتلة بعض المجاميع المتعادلة المحتمل إنفصالها من المركبات أثناء تأينها.

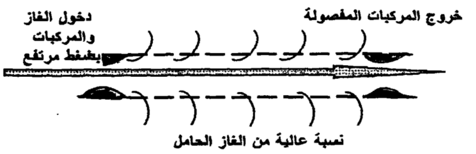
وزن جزيئي Molecular Ion Minus	الشق المنفصل Fragment Lost
1	$H\cdot$
15	CH_3
17	$HO\cdot$
18	H_2O
19	$F\cdot$
20	HF
26	$CH{\equiv}CH$, $\cdot C{\equiv}N$
27	$CH_2{=}CH\cdot$, $HC{\equiv}N$
28	$CH_2{=}CH_2$, CO, $(HCN + H)$
29	$CH_3CH_2\cdot$, $\cdot CHO$
30	$NH_2CH_2\cdot$, CH_2O, NO
31	$\cdot OCH_3$, $\cdot CH_2OH$, CH_3NH_2
32	CH_3OH, S
33	$HS\cdot$, $(\cdot CH_3$ and $H_2O)$
34	H_2S
35	$Cl\cdot$
36	HCl, $2H_2O$
37	H_2Cl (or $HCl + H$)
38	$C_3H_2\cdot$, C_2N, F_2
39	C_3H_3, HC_2N
40	$CH_3C{\equiv}CH$
41	$CH_2{=}CHCH_2$
42	$CH_2{=}CHCH_3$, $CH_2{=}C{=}O$, $\overset{CH_2}{\diagup\;\diagdown}$ $CH_2{-}CH_2$, NCO, $NCNH_2$
43	$C_3H_7\cdot$, $CH_3\overset{O}{\overset{\Vert}{C}}\cdot$, $CH_2{=}CH{-}O\cdot$, $[CH_3\cdot$ and $CH_2{=}CH_2]$, $HCNO$
44	$CH_2{=}CHOH$, CO_2, N_2O, $CONH_2$, $\cdot NHCH_2CH_3$
45	CH_3CHOH, $CH_3CH_2O\cdot$, CO_2H, $CH_3CH_2NH_2$
46	$[H_2O$ and $CH_2{=}CH_2]$, CH_3CH_2OH, $\cdot NO_2$
47	$CH_3S\cdot$
48	CH_3SH, SO, O_2
49	$\cdot CH_2Cl$
51	$\cdot CHF_2$
52	C_4H_4, C_2N_2
53	C_4H_5
54	$CH_2{=}CH{-}CH{=}CH_2$
55	$CH_2{=}CHCHCH_3$
56	$CH_2{=}CHCH_2CH_3$, $CH_3CH{=}CHCH_3$, $2CO$
57	$C_4H_9\cdot$
58	$\cdot NCS$, $(NO + CO)$, CH_3COCH_3
59	$CH_3O\overset{O}{\overset{\Vert}{C}}\cdot$, $CH_3\overset{O}{\overset{\Vert}{C}}NH_2$, $\overset{H}{\overset{\vert}{S}}\triangle$
60	C_3H_7OH
61	CH_3CH_2S, $\overset{H}{\overset{\vert}{S}}\triangle$
62	$[H_2S$ and $CH_2{=}CH_2]$
63	$\cdot CH_2CH_2Cl$
64	C_5H_4, S_2, SO_2
68	$CH_2{=}\overset{CH_3}{\overset{\vert}{C}}{-}CH{=}CH_2$
69	$CF_3\cdot$, $C_5H_9\cdot$
71	C_5H_{11}
73	$CH_3CH_2O\overset{O}{\overset{\Vert}{C}}\cdot$
74	C_4H_9OH
75	C_6H_3
76	C_6H_4, CS_2
77	C_6H_5, CS_2H
78	C_6H_6, CS_2H_2, C_5H_4N
79	$Br\cdot$, C_5H_5N
80	HBr
85	$\cdot CClF_2$
100	$CF_2{=}CF_2$
119	$CF_3{-}CF_2\cdot$
122	C_6H_5COOH
127	$I\cdot$
126	HI

الكروماتوجرافي الغازي – مطياف الكتلة:

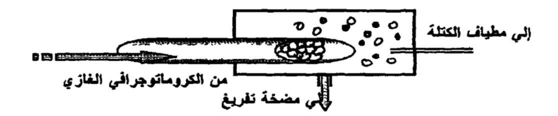
: (Gas-Chromatography – Mas Spectrometer)

يمكن تشغيل جهاز الكروماتوجرافي الغازي مع مطياف الكتلة معا (GC -MS) كجهاز واحد من خلال تنظيم تصميمه فجهاز الكروماتوجرافي الغازي أنسب وسيلة لفصل المركبات عن بعضها وقياس تركيزاتها كل علي حدة وبمستوي حساسية ودقة عالي كما سيتضح في الباب اللاحق بينما مطياف الكتلة وسيلة للتعرف علي تركيب المواد وبصمتها معا وعليه يمكن الإستفادة من ميزاتهما معا.
والكروماتوجرافي الغازي يعمل علي ضغط ٧٦٠ تور بينا مطياف الكتلة يعمل علي ١٠ $^{-٥}$ – ١٠ $^{-٦}$ تور ومن هنا يجب خفض ضغط الغاز الحامل للضغط المناسب بمطياف الكتلة كذلك إزالة هذا الغاز الحامل عند نقطة أتصلهما معا بحيث يسمح للمواد المفصولة فقط بدخول المطياف باستعمال مفرق مخلوط الغاز والمركب المفصول (Effluent splitter) والمعتمد علي انخفاض وزن الغاز كثيرا عن المركبات التي يحملها ومن هنا يمكن إزالته بمضخة تفريغ خلال حجرة التدفق (Effusion chamber) والمحتوية علي حاجز به فتحات تسمح بمرور جزيئات الغاز دون المركبات المفصولة والمحمولة معه.
أو بالإنبثاق السريع من فتحة الدخول وبسرعة فوق سرعة الصوت خلال فتحة صغيرة جداً أو باستخدام فاصل للجزئيات كما يعتمد علي الأختلاف الكبير في درجة النفاذية خلال طبقة سيليكون كما موضح بالشكل رقم (٦–١١) .

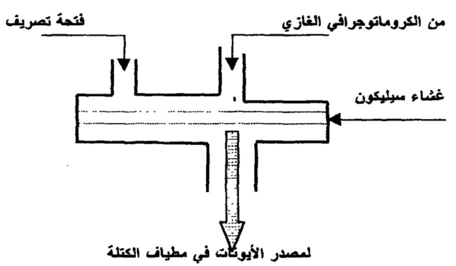
وفيما يلي أهم نتائج تطبيقات الكروماتوجرافي الغازي مع مطياف الكتلة في التعرف علي بعض السموم والملوثات البيئية من خلال استعراض طيف الكتلة لهذه السموم



وحدة المفرق



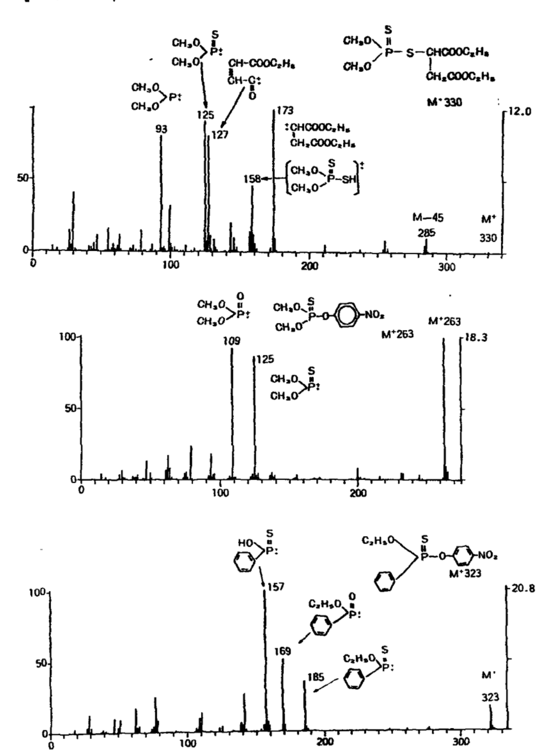
الإنبثاق من الفتحة

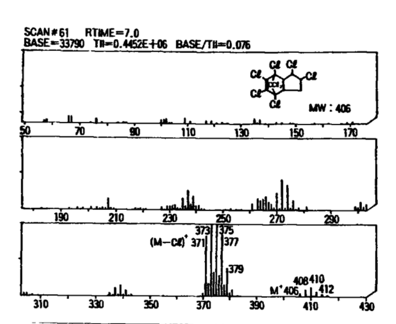


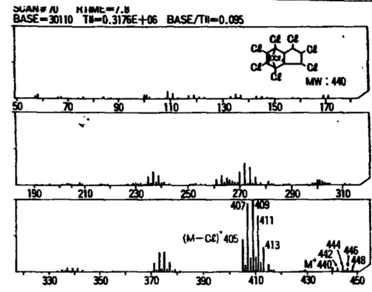
مفرق الجزيئات

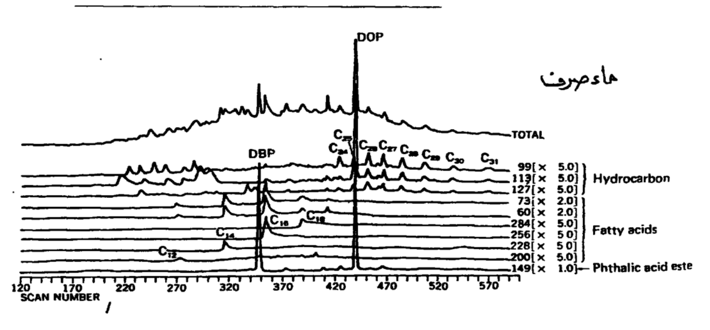
شكل رقم (٦-١١) : الكروماتوجرافي الغازي-مطياف الكتلة

شكل رقم (٦-١٢):طيف الكتلة لمبيد المالاثيون والميثيل باراثيون والكلوردان وEPN من خلال التأين بالتصادم الألكتروني




SCAN#61 RTIME=7.0
BASE=33790 TII=0.4452E+06 BASE/TII=0.076
MW : 406
(M−Cℓ)+ 371
373
375
377
379
M+406
408 410
412


BASE=30110 TII=0.3176E+06 BASE/TII=0.095
MW : 440
(M−Cℓ)+ 405
407
409
411
413
M+440
442
444
446
448


DOP
DBP
TOTAL
Hydrocarbon
Fatty acids
Phthalic acid este
SCAN NUMBER

BAH

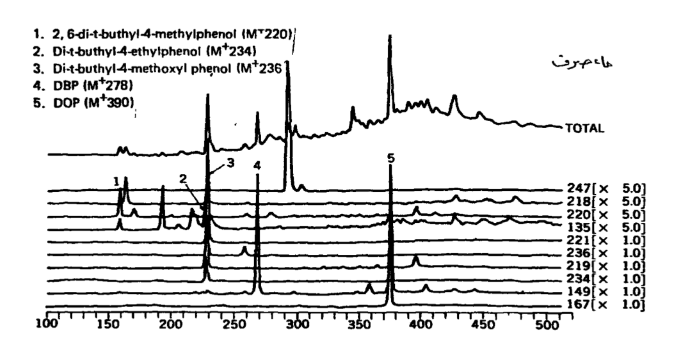
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

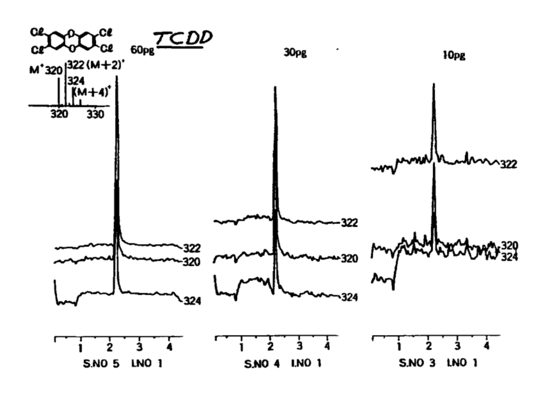
Analytical conditions

Column:	SE-30, 25m x 0.3 mmφ
Column temperature:	100°C – 270°C (4°C/min)
Injection port temperature:	270°C
Separator temperature:	300°C
Ionizing source temperature:	250°C
Ionizing voltage:	20eV
Ionizing current:	60μA
Accelerating voltage:	3.5 kV

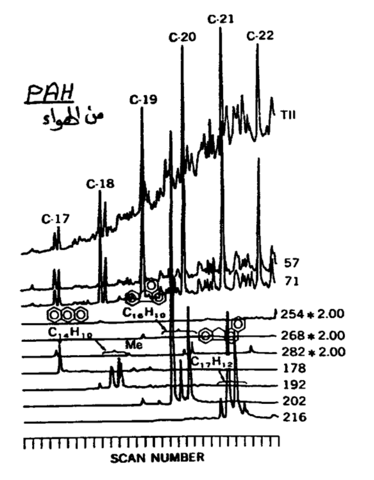
178
202
216
234
228
252
276

TIME (min)





TCDD
60pg
30pg
10pg
M⁺320
322 (M+2)⁺
324
(M+4)⁺
320
330
322
320
324
1 2 3 4
S.NO 5 LNO 1
S.NO 4 LNO 1
S.NO 3 LNO 1



PAH
من الهواء
C-17
C-18
C-19
C-20
C-21
C-22
TII
57
71
254 * 2.00
268 * 2.00
282 * 2.00
178
192
202
216
Me
SCAN NUMBER

الباب السابع

الكروماتوجرافى الغازى

الكروماتوجرافى الغازى والغازي السائل
(Gas Chromatography : GC & Gas liquid Chromatography : GLC)

يعد الكروماتوجرافى الغازى من ادق وأسرع وأبسط وأهم طرق التحليل الأساسية لفصل (Separation) مكونات أى مخلوط من المركبات ثم تعريفها (Identification) وهو ما يسمى بالتحليل الوصفى : النوعى (Qualitative Analysis) ثم تقدير كل مكون (مركب) على حده كميا وهو ما يعرف بالتحليل الكمى (Qualitative Analysis) وبدرجة عالية من الحساسية والدقة والتى قد تصل الى جزء فى التريليون (Part Per Terllion) أى لمستوى البيكوجرام (Picogram) وذلك علاوة على السرعة فى الفصل والتعريف والتقدير (بما فى ذلك المركبات المتطايرة ذات نقطة الغليان حتى ٣٥٠ م) .

ويرجع إنتشار نطاق استخدامه الى تنوع الأعمدة والكاشفات المستخدمة معه (Detectors) .

وتعد الفكرة الاساسية والمنبثقة منها فكرة عمل الجهاز هى عملية التجزيئى (Partitioning) لمكونات مخلوط العينة الموجودة بين طورين هما:

١. الطور المتحرك **Un-stationary (Mobile) Phase:**

يتمثل فى الغاز النقى الحامل الخامل (Pure Inert Carrier Gas) والمنساب داخل العمود (Column) بضغط معين ومعدل سريان معين ثابت يختلف تبعا للطريقة المستخدمة على نوعية التركيب الكيميائى لمخلوط العينة ودرجة قطبيته (Polarity) .

وهنا يتوقف إختيار نوع الغاز الحامل على نوع الكاشف المستخدم (Detector) والذى بدوره يتوقف على طبيعة التركيب الكيميائى للموكب المستخدم ومن أمثلة هذه الغازات النيتروجين والهليوم والأرجون والهيدروجين .

٢. الطور الثابت : **Stationary (Immobile) Phase**

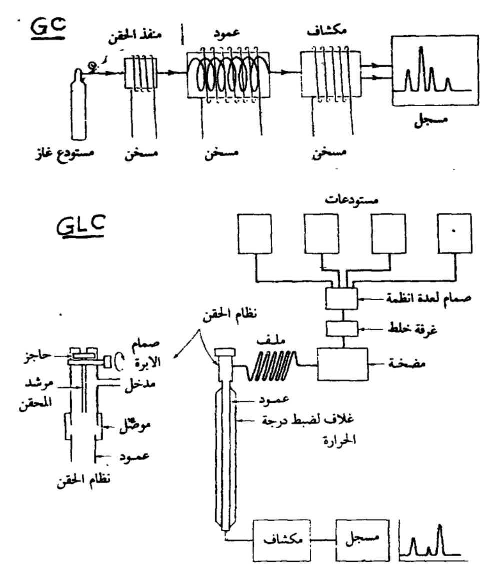
ويتمثل فى طور سائل غير متطاير وغير متبخر (Non-Volatile & Non-Vaporized) يغلف حبيبات المادة المدمصة المدعمة المعبأ بها العمود

(Packing Adsorbed :Support Material) المادة المدعمة حيث يثبت العمود (قلب الجهاز) فى فرن كهربى ذو درجة حرارة متغيرة يتحكم فيها بالدرجة الواحدة وبالتالى يمكن التحكم فى توزيع العينة وبدوره يتحكم فى معدل ازاحتها (Distribution & Elution Rate) ، حيث تتأثر مقدرة العمود على الفصل (Separation Capability) بتفاوت درجة الحرارة .

ولابد وأن كون العوامل السابقة فى أمثل حدود لها (Optimum Limits) للحصول على منحنى فصل اكثر تماثل (Fuel Scale Deflection: FSD) مع ادنى ضوضاء بالخط القاعدى (Minimal Base Line Noise : MBLN)

فعند حقن عينة ما يراد فصل مكوناتها وتعريفها وتقديرها كميا :

- يحدث تطاير سريع للمذيب المذابة فيه مكونات العينة بفعل درجة حرارة الفرن وهنا تتحول مكونات العينة للصورة البخارية بحيث تسبح ابخرة المكونات (Swept)مع الغاز الحامل (الطور المتحرك) فيحملها معه ، شكل رقم (٧ – ١).
- وهنا يتم توزيع مكونات العينة بين الطورين المتحرك (الغازى) و الثابت (السائل المدمص والمغلف مادة حشو العمود:المادة المدعمة وهنا اما تدمص (Adsorb) مكونات مخلوط العينة على سطح الحبيبات المغلفة بالطور الثابت او تذاب فيه تبعا لموائمة (Affinity) قطبيتها وقطبية الطور المستخدم .
- وبناءاً على ذلك يختلف معامل تجزئتها بالعمود (Partition Coefficient) تبعا للوزن الجزيئى لمكونات مخلوط العينة المفصولة وبالتالى درجة قطبيتها وقطبية الطور السائل (الطور الثابت) ودرجة غليانها:
  - فالمركبات ذات درجة الغليان المنخفض تزاح بسهولة وبسرعة من العمود ولكن قد يحدث بها تداخل للمنحنيات الناتجة عنها (Over lapping) .
  - أما المركبات ذات درجة الغليان المرتفعة فتتأخر إزاحتها وتحتاج لوقت أطول مع تطلب رفع درجة حرارة الفرن المستخدمة فى الفصل وهنا من الأهمية بمكان فى هذا الصدد الأخذ فى الإعتبار أن ظاهرة نزف العمود (Column bleeding) يزداد بزيادة آسية مع زيادة درجة الحرارة .
- وبإستمرار تعرض المكونات لدرجة حرارة الفرن تبدأ جزيئات مكونات العينة فى الإنتشار (Diffusion) خلال جزيئات مادة حشو



شكل رقم (٧-١) : رسم تخطيطي يوضح الأجزاء الرئيسية في كروماتوجرافي الغازي

العمود (Support Adsorbent Material) المغلفة بالطور السائل (Liquid Phase) ثم يتبع ذلك انتقال كتلة هذه المكونات (Mass Transport) تبعا لوزنها بجزيئى وقطبيتها مما يحدث تفاوت تأخير (Retardation) فى زمن خروج هذه المكونات تباعا من العمود وهو ما يشير بأن عملية الانتشار السابقة عملية انتشار محكومة ومسيطر عليها (Controlled Diffusion) تستلزم وقت معين يعتمد على مربع المسافة التى تتحركها الجزيئات والتى بدورها تتناسب عكسيا مع مربع الانتشار .

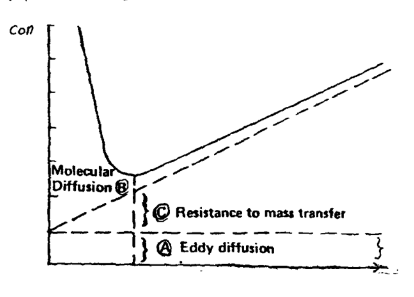
ويكون الإنتشار المحكوم في صورة :

- إنتشار دوامي (Eddy Diffusion)
- إنتشار طولي (Long tudinal diffusion) للأمام و للخلف وهو ما يقلل بدوره الإنتشار و الحركة للأمام وهنا يقل مع معدل سرعة سريان الغاز وقت الفصل (Separation : elution time) وتكون النتيجة أن تأخذ جزيئات المكونات المفصولة حركتها في شكل زجزاجي (Zigzag) .

وتكرار حركة المكونات بين هذين الطورين تؤدي لحدوث سيطرة علي الإنتشار تبعاً إلي :

- معامل الإنتشار(Diffusion Coefficient) بين الطورين المتحرك والثابت.
- مقاومة إنتقال الكتلة للمكونات (Resistance to mass transport) بين الطورين المتحرك و الثابت وهما في نفس الوقت السبب الرئيسي في إتساع قاعدة المنحني وذلك نتيجة بطيء إنتقال الكتلة وهو بدوره ما يؤدي إلي إنخفاض فاعلية العمود (Column efficiency).

وعند رسم العلاقة بين تركيز كل مكون وحجم الطور المتحرك نحصل علي منحني ناقوسي متماثل (Symmetrical Bell shape) وتسمي المنطقة التي يظهر فيها المنحني بمنطقة الإنتشار الدوامي ، شكل رقم (٧ -٢) :

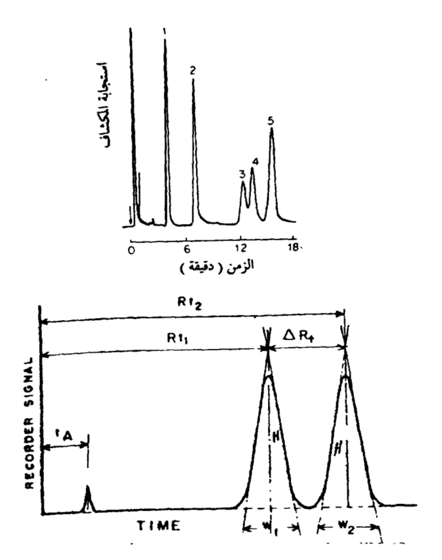


شكل رقم (٧-٢) : منحني الإنتشار الدوامي والذي يربط بين العلاقة بين تركيز المكون و حجم الطور المتحرك

ويسمي حجم الغاز اللازم والذي يحتاج إليه لإتمام عملية الفصل (التحليـلى) لمكونات العينة بحجم الإستبقاء (Retention Volume V_R) حيث :

حجم الإستبقاء=وقت الإستبقاء(R_t) . معدل سريان الغاز اللازم لظهوره(Fe)

والشكل التالي رقم (٧-٣) يوضح خريطة (Shart) لفصل مخلـــوط مـــن ثلاث مكونات (مركبات) :



شكل رقم (٧-٣) : كروماتوجرام لفصل ثلاثة مكونات موضحا عليها وقت التأخير لكل منها

الوحدات المكونة لجهاز الكروماتوجرافي :

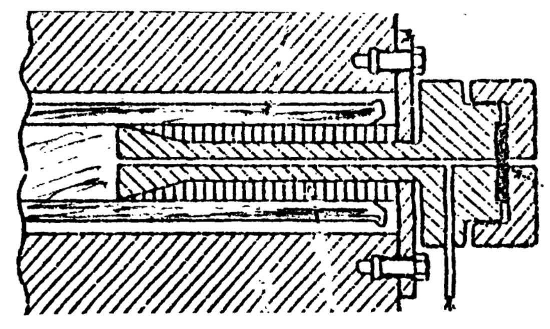
يتكون جهاز الكروماتوجرافي من الوحدات الأساسية التالية :

١-نظام الحقن : إدخال العينة (Injection: Introducing block system) :

يتم إدخال العينة (Sample introduce) في صورة سائلة نقية تماماً ومذابة في مذيب مناسب بغرض الحصول علي منحني(Peak) متماثل ضيق القاعدة .

ويتم الحقن بمحقن (Syringe) دقيق ميكرومتري حيث يتراوح حجم الحقنة بين ١-١٠٠ ميكروليتر ويزود المحقن بإبرة طويلة دقيقة جداً يتم إدخالها في حاجز مطاط (Self sealing septum) بمقدمة المحقن ، شكل رقم (٧-٤) .

ويصنع الحاجز من مطاط سيليكوني (Siliconized rubber) ليتحمل درجات الحرارة العالية بمكان الحقن حيث تكون درجة حرارة الحقن أعلي من درجة حرارة الفرن (Oven temperature) المثبت به العمود بحوالي ٢٠-٥٠ درجة مئوية دون تغير في طبيعة تركيبها ودون أن يتسع مكان الثقب بعد إخراج المحقن عدة مرات و بالتالي يمنع تسرب مكونات مخلوط العينة الذي تم حقنه بعد سحب إبرة المحقن من مكان الحقن .



شكل رقم (٧-٤) :رسم تخطيطي يوضح نظام الحقن (Injection block)

وعليه فكلما تحمل حاجز مكان الحقن عدد أكبر من الحقنات كلما كان الحاجز أجود وأغلي ثمناً وغالبا ما يتحمل سبعون حقنة ثم يتم تغيره بـأخر إلا إذا تطلب الأمر تغيره قبل ذلك ولهذا يجب تغير مكان الحقن خاصة الحاجز المطاطي من فترة إلي أخري فعدم تغيره في حينه يؤدي إلي تسرب بعض من تركيز مكونات العينة المحقونة .

أما عدم تغير مكان الحقن (وسيأتي شرح ذلك فيما بعد) فإن ذلك يؤدي إلي ظهور منحنيات غير منحنيات مكونات العينة المراد تحليلها وهي منحنيات لنواتج تمثيل هدمي لبعض المركبات مثال ذلك ظهور منحنيات للممثلات بارا و بارا-ددد (P,P-DDD) عند فصل مركب الألد رين كمرجع (Reference) علي العمود من النوع (SE – 30 / QF – 1) وفي حالات أخري ظهر الممثل بارا بارا-ددا (P,P-DD) بجانب مركب الددت النقي .

ويتم الحقن بإحدى الطريقتين :

- السحب المزدوج (Double drawback) :

حيث يؤخذ الحجم المراد حقنه ويحقن وبعد إتمام عملية الحقن وإخراج إبرة المحقن يتم إسترجاع ما تبقي من العينة بالمحقن ويقرأ حجمه ويطرح من الحجم المأخوذ :

وعليه يكون التركيز الفعلي المحقون هو الفرق بين الحجمين المأخوذ و المتبقي .

- السحب الفردي (Single drawback):

حيث يؤخذ الحجم المراد حقنه و يحقن مع التغاضي عن (disregarding) الأخذ في الإعتبار حساب التركيز المتبقي أو طرحه حيث أنه يعادل نفس التركيز بالحجم المتبقي بالعينة المرجع وهنا لا نحتاج إلي تصحيح حيث أن الخطأ التجريبي هو نفسه بعينة المرجع فيلاشيه .

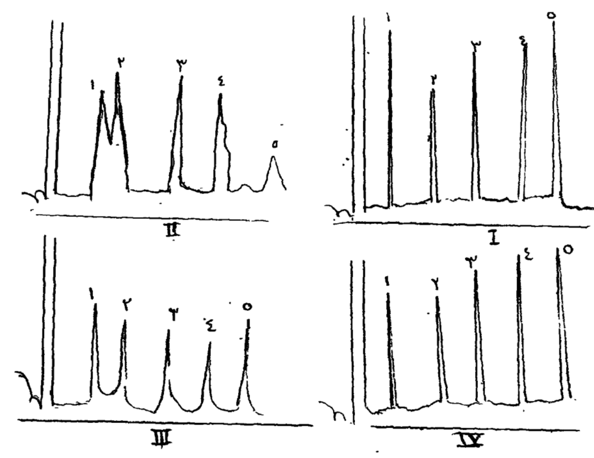
ويراعي تنظيف المحقن عدة مرات بالمذيب المستخدم قبل وبعد الحقن لعدم إتلاف المحقن أو إنسداد الإبرة الدقيقة . ويتم تنظيف المحقن غير المستعمل لفترة بواسطة محلول الغسيل (Washing mixture) حيث يتكون مخلوط الغسيل من ٤٠ جرام أنهيدريد الكروميك و ٠,٦ ملل حمض كبريتيك مركز ثم يكمل الحجم إلي ١٠٠ ملل ماء مقطر .

وعقب حقن العينة مباشرة في نظام الحقـــن يتطـــاير المذيـــب وتتحـــول جزيئات مكونات العينة للصورة البخارية بفعل حرارة الفرن حيـــث يحملـــها الغاز الحامل والداخل للعمود من فتحة سابقة لمكان وصول الحقنة وهنا يقـــوم المجزئ (Splitter) بالسماح لكميات صغيرة من العينة بالدخول تباعاً للعمـــود بما يسمح لهذه الدفعات بالإلتفاف خول حبيبـــات المـــادة المدعمـــة المائلـــة (Backed support material) بشكل دوامي زجزاجي ومن هنا يكون لها ســـرعة متوسطة(Average velocity value)

التحميل الزائد للحقن (Injection loading) :

يؤدي الحقن المتكرر والزائد إلي حدوث إنهيار للمركب المحقون وظـــهور ممثلات (Metabolites) له وهذا ما يلاحظ في الكروماتوجرامـــات الأربعـــة التالية والتي تم فيها فصل عينة لمخلوط مكون من خمسة مركبات علي عمود (2% OV-1/ 3 % QF) ، شكل رقم (٧-٥) :

- عند حقن المخلوط السابق علي العمود المعبأ حديثاً وفي نفس الوقـــت حديث التوصيل بالكاشف أعطي الكروماتوجرام الأول .
- عند حقن المخلوط السابق وعلي نفس العمود وذلك بعد ثلاثون دقيقـــة من إستمرار التشغيل من أخر حقنة لمستخلص عينة دهنية تحتوي (علـــي ٢,٥ ميكروجرام دهن عدة مرات بلغت ثمانية عشرة حقنة متتالية وكـــانت هذه العينة الدهنية تم إستخلاصها بواسطة ١٠ % داي إيثيل إيـــثر فـــي البتروليم إيثر خلال عمود الفلورسيل) ظهر كروماتوجرام الثاني حيـــث لوحظ إنخفاض قمم المنحنيات لمكونات مخلوط العينة وظـــهور ظـــاهرة التذييل (Tailing phenomena) .
- وبتغير شمعة الحقن (Injection insert) وكذلك (Vykor glass) ثم أعيـــد الاتزان لمدة ثلاثون دقيقة ثم حقـــن المخلـــوط مـــرة أخـــري فـــأعطي الكروماتوجرام الثالث والذي أظهر استعادة جزئيـــة (Partial recovery) ولكنها ليست علي ما يرام (Dramatic recovery) .
- وبإجراء عملية تهيئة للعمود بالحرق (Heat curing) ليوم وليلـــة (Over night) مع التشغيل العادي من حيث باقي الظروف ثم الحقن بعينة نفـــس المخلوط وتحت نفس الظروف الأولي ظهر الكروماتوجرام الرابع والذي



شكل رقم (٧-٥) : كروماتوجرامات لفصل مخلوط عينة مكون من خمسة مركبات علي عمود (2% OV-1/ 3 % QF)

يشير إلي حـــدوث إســتعادة شــبه كاملــة : (Semi-complete recovery Regeneration) .

- وبإستعراض الكروماتوجرامات الأربعة نجد أن العمود الذي أصبـــح ملوث ومخرب (damaged) سواء نتيجة الحقن الروتيني المتكرر أو نتيجة حقن عينات ليست علي درجة عالية من النقاء (Clean-up) يمكن إصلاحه (salvaged) من خلال :

١-تغير شمعة الحقن (Injection insert) في نظــام الحقــن (Injection block) .

٢-تغير كتلة الصوف الزجاجي بمقدمة العمود (Forward glass wool plug) وبطول ١ بوصة وهي المنطقة الأكثر عرضي للتلوث .

٣-تغير المادة المالئة (Backed material) بمقدمة العمود وبطول بوصة واحدة .

مما سبق يتضح أن التحميل (Loading) يؤدي إلي إنخفاض تدريجي في الإستجابة لكثرة الحقن وبالتالي إستمرارية تراكم الشوائب علي مادة الحشو فتكون مظاهر التحميل وكما سبق حدوث تراكب وتداخل وتذييل وإنهيار للشوائب والمركبات المتراكمة وعليه يكون تشغيل الجهاز ليوم وليلة ثم الحقن غالبا ما يؤدي لإزالة خطر التحميل أو من خلال إجراء عملية السيللة (Sylilation) أو تغير وحدة (Vykor glass) أخرى جديدة نظيفة بمكان الحقن يؤدي إلي إستعادة مفاجئة في الحساسية وبالتالي أداء عالي .

٢-نظام تدفق الغاز (Gas flow system) :

يتم إختيار الغاز الحامل الخامل النقي الخالي من الشوائب خاصة الشوائب الأكسيجينية المؤكسدة للأطوار الثابتة المستخدمة خاصة بالأعمدة الشعرية وذلك تبعا لنوعية الكاشف سواء أكان نيتروجين أو هليوم (وذلك لإرتفاع درجة توصيلهما الحراري) أو الأرجون والهيدروجين مع الأخذ في الإعتبار درجة النقاوة العالية للغاز خاصة عند إستخدام كاشف الإلتقاط أو المسك الإليكتروني (Electron Capture Detector : ECD) ، جدول رقم (٧-١) :

جدول رقم (٧-١) : الغازات الحاملة المختلفة والكاشفات المناسبة لها

الكاشف	نوع الغاز المستخدم
كاشف الإلتقاط أو المسك الإليكتروني (Electron Capture Detector : ECD)	النيتروجين – الهليوم
كاشف اللهب الضوئي (Flame photometry Detector : FPD)	النيتروجين – الأرجون
كاشف اللهب المتأين (Flame Ionization Detector : FID)	النيتروجين – الهليوم
كاشف التوصيل الحراري (Thermal Conductivity Detector :TCD)	النيتروجين – الهليوم – الهيدروجين

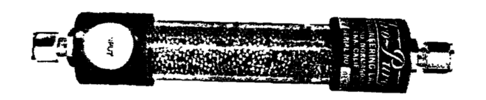
وينساب الغاز المضغوط من مصدره والــذي غالبــا مــا يكــون أســطوانة بمواصفات خاصة إلي فلتر أو مرشح للتنقية (Cleaning filter) ثم إلـــي فلــتر لتجفيف الغاز(Dry filter : Molecular sieve) وتتنوع أمثلة هذه المرشحات فمنها:

- فلتر هيدروبيرج (Hydro-purge filter) :

ويمكن توصيله بين إنبوبة الغاز المضغوط و عمود الكروماتوجرافي ويقوم بإزالة شوائب الغاز (Gas impurities) والغازات الأخرى الخاملة والمتواجدة والمتداخلة معه بنسب صغيرة وكذلك الرطوبة من خلال تجفيف الغاز كما في حالة غازي النيتروجين والهليوم شكل رقم(٧-٦)

ويعبأ المرشح بمادة جزيئية مدمصة (Molecular adsorbent sieve) تمتص حوالي ٢٢ % من وزنها ماء حيث تتراوح سعة التجفيف الكلية للوحدة (Total drying capacity) من ٥-١٢ جرام ماء ، كما تدمص مادته مدي واسع من الغازات الشائبة (Corrosive gases) كالأمونيا وثاني أكسيد الكربون وثاني أكسيد الكبريت وثاني أكسيد النيتروجين وكبريتيد الهيدروجين وحمض الهيدروكلوريك .

ويحتوي المرشح علي دليل جزيئي بصورة كريات صغيرة زرقاء لامعة وسط المادة الجزيئية المدمصة كدليل فيتغير لونها عندما تصل درجة تشبعها٧٥ % وهو ما يمكن رؤيته من خلال جدارها اللكساني الشفاف(Transparent Lexan) كإنذار بضرورة تغيرها أو إعادة ملئها (Recharge) بمادة مدمصة جديدة وهنا يتحول لونها من الأزرق .



شكل رقم (٧-٦):فلتر هيدروبيرج لإزالة الشوائب والرطوبة الغاز الحامل

ويعمل المرشح والمصمم علي العمل عند ضغط يبلغ ٦٠ باوند /بوصة مربعة (Psig) وطرفاه معدة بلاكور (Swagelok) بقطر ١/٤-١/٨ بوصة في حين الهيدروبيرج المعدني الصلب مصمم علي العمل عند ضغط يبلغ ٤٠٠ باوند /بوصة مربعة . كذلك يوجد نوع قياسي منه مصمم لإلقائه بعد تشبعه (Dispose H.P.) وتركيبه كما سبق ولكن جداره الخارجي من البوليفينيل كلوريد (PVC) خامل ومقاوم لفعل الأحماض والقلويات و الحرارة ويعمل علي ضغط يصل إلي ٦٠ باوند /بوصة مربعة .

- مصيدة الأكسيجين (Oxygen trap) :

وتعمل كمصيدة لإدمصاص الأكسيجين من الغاز الحامل حيث يحتوي علي مادة لإدمصاص الأكسيجين بجانب دليل يتغير لونه من الأخضر إلي الرمادي (Gray) عند التشبع . وجداره من الزجاج الشفاف ويغطي بطبقة رقيقة كفيلم من البلاستيك لتأكيد آمان العمل . ويصل طوله إلي ٩,٥ بوصة وبنصف قطر يبلغ نصف بوصة ويدمص حوالي ١٨ سم مكعب أكسيجين تحت الظروف القياسية من الضغط والحرارة . ويمكن تنشيط مادة إدمصاصه من جديد بالتسخين مع الهيدروجين (Regenerated by heating) .

- الفلتر الماسي (Diamond gas purifilter) :

وهو فلتر يستخدم ثم يهمل بعد ذلك ويوصل مباشرة مع خط الغاز ويدمص كل من الأكسيجين والماء من الغاز الخامل حتى مستوي جزء في المليون فالوحدة تزيل ٢٥٠ سم مكعب ويستخدم مع النيتروجين والأرجون والنيون والكريبتون والهليوم والهيدروجين .

أمثلة لمواد إدمصاص جزيئية خاصة (Special molecular adsorbent sieve) :

وهي مواد إدمصاص جزيئية خاصة مغربلة معدنيـــة كالألومينوســيليكات (Aluminosilicate) القلوية حيث يتراوح مدي أس أيون الــهيدروجين لــها ١٠ وثابت بين المدى ٥-١٢ .

أما من حيث تركيبها فهي بلورية مما يسمح بدوره الفصل للمركبات تبعـا لحجمها بجزيئى (Molecular size) ، جدول رقم (٧-٢) ومن أمثلتها :

- النوع ٣أ : ويتراوح حجم حبيباتها بيـن ٣٠/٦٠ و ٤٥/٦٠ و ٦٠/٨٠ و ٨٠/١٠٠ و ١٠٠/١٢٠ وتدمس الجزيئات حتى قطر ٣ أنجستروم وتستخدم في تجفيف الهيدروكربونات الغير مشبعة و تجفيف السوائل القطبية .

- النوع ٤أ : ويتراوح حجم حبيباتها بيـن ٣٠/٦٠ و ٤٥/٦٠ و ٦٠/٨٠ و ٨٠/١٠٠ و ١٠٠/١٢٠ وتدمص الجزيئـــات حتـى قطـر ٤ أنجســتروم وتستخدم في تجفيف الهيدروكربونات الغير مشبعة ونزع أبخــرة الرطوبــة الإستاتيكية (Static dehydration) للغازات المغلفة أو الأنظمة السائلة .

- النوع ٥أ : ويتراوح حجم حبيباتها بيــن ٣٠/٦٠ و ٤٥/٦٠ و ٦٠/٨٠ و ٨٠/١٠٠ و ١٠٠/١٠ وتدمص الجزيئــات حتـى قطـر ٤ أنجســتروم وتستخدم فـــي فصـل البارافينـــات العاديــة مــن السلاســل المتفرعــة والهيدروكربونات الحلقية .

أمثلة لمخاليط إدمصاص الدهون والزيوت(Fat & Oil reference mixture) :

- مخلوط رقم ١ : يستخدم مع زيوت الذرة وبذرة القطن وفول الصويــا وعباد الشمس والسمسم وبذور (Safflower) وبذور الخشـــخاش(Poppy seed) وعين الجمل (Wal nut) والكابوك (Kapok) وأغلفـــة (ردة) الأرز (Rice bran oils) .

- مخلوط رقم ٢ : يستخدم مع بذور العدس و (Perilla) والقنب(Hemp) و زيت بذور المطاط(Rubb seed oil) .

- مخلوط رقم ٣ : يستخدم مع بـــذور (Pea nut) و (Rape seed) وبذور المستارد الزيتية (Mustard seed oil) وزيت الزيتون والشاي .
- مخلوط رقم ٤ : يستخدم مع بذور زيت الزيتون والشاي و (Heat stood oil) .
- مخلوط رقم ٥ : يستخدم مع بذور(Coconut palm kernel) و (Babassu) و (Ouricuri oil) .

جدول رقم (٧-٢) :مخاليط (F & OR) والمركبات التي تقوم بإدمصاصها :

Mixture	Methyl Ester Composition (Weight %)													
	8:0	10:0	12:0	14:0	16:0	18:0	20:0	22:0	24:0	16:1	18:1	22:1	18:2	18:3
F & OR MIXTURE No. 1 Use with Corn, cottonseed, soybean, safflower, sunflower, sesame, poppyseed, walnut, kapok, and rice bran oils					6.0	3.0	3.0				35.0		50.0	3 u
F & OR MIXTURE No. 2 Use with. Linseed, perille, hempseed, and rubber-seed oils.					7.0	5.0					18.0		38.0	34.0
F & OR MIXTURE No. 3 Use with Peanut, rapeseed, and mustard seed oils.				1.0	4.0	3.0	3.0	3.0	3.0		45.0	20.0	15.0	3.0
F & OR MIXTURE No. 4 Use with: Olive, teaseed, and neatsfoot oils.					11.0	3.0					80.0		6.0	
F & OR MIXTURE No. 5 Use with: Coconut palm kernel, babassu, and ouricuri oils	7.0	5.0	48.0	15.0	7.0	3.0					12.0		3.0	
F & OR MIXTURE No. 6 Use with· Lard, beef tallow, mutton tallow, and palm oil				2.0	30.0	14.0				3.0	41.0		7.0	3.0

جدول رقم (٧-٣) : مخاليط المعهد القومي الصحي (NIH.) والمستخدمة لتقدير حدود الحمل للكاشف (Load limits) وعلاقة الإستجابة- الحمل النســـبية (Relative Load-Response relationship) للدهون المشبعة وإسترات الميثيل :

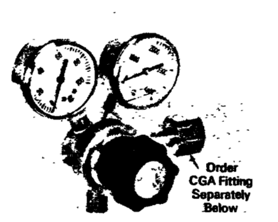
Methyl Ester Composition (Weight %)											
8:0	10:0	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	20:0	22:0	24:0	Type
			25.0	10.0		65.0					KA
			4.0	40.0		56.0					KB
1.5	3.0	6.0	12.0	19.4		24.9		33.2			KC
			11.8	23.6	6.9	13.1	44.6				KD
6.3	9.1	12.1	23.3	49.2							KE
			2.5	4.2		7.3		13.6	25.4	47.0	KF

- وبعد خروج الغاز من الأسطوانة إلي فلتر التنقية يدخل إلي الروتاميتر (Rotameter) ثم إلي صمام التدفق (Flow controller) ثم إلي العمود ومنـــه للكاشف وهو نظام تدفق محكم لا يوجد به ثغرة لتسرب الغـــاز حتـــى لا تتأثر حساسية الكاشف حيث أن أي تغير في معدل إنسياب الغاز الحـــامل يؤدي إلي:
- تغير في إستجابة الكاشف (Detector response) .
- وتغير في وقت الإستبقاء (Retention time) .
- وهبوط خط الأساس (Drop in back ground line) .

وعموما يمكن تتبع التسرب من خلال وضع صابون سائل علي الوصـــلات المختلفة و ملاحظة أي رغاوى في مكان التسرب أو برش أماكن الوصـــلات بمادة (Freon MS/ 80) .

وينظم خروج الغاز من الأسطوانة منظم ثنـــائي المرحلـــة (Two stage regulator : Double pressure) ، شكل رقم (٧-٧) حيث يكــون الضغــط أثنـــاء مرحلة تنظيمه الأولي هو ٢٠٠٠-٢٤٠٠ باوند /بوصة مربعة ثم يعدل بعـــد خروجه من الفلتر وقبل دخوله العمود إلي مدي يتراوح بين ٢٥-٥٠ بـــاوند /بوصة مربعة وهنا ينظم سريان الغاز داخل العمود بصمام أبـــري (Needle valve) ليسمح بمرور الغاز بمعدلات مختلفة تبعا لظروف التحليل الموصـــي بها وهنا تظهر قيمة قراءة الضغط علي عداد ضغط :مانوميتر (Manometer) أو علي الروتاميتر (Rotameter flow controller) في بعض الأجهزة والي يظهر بشكل أنابيب زجاجية تتحرك داخلها كرات خفيفة رأسياً وبحرية تامة لأعلـــي مع ضغط الغاز ويراعي تنظيفها من وقت لأخر بمذيبات الشموع والشـــحوم (Freon) حتى لا تصبح لزجة فتؤثر علي قيمة القراءة وعموما يتناسب معـــدل السريان بالنسبة لأقطار الأعمدة الداخلية فتكون في حدود ٣سم مكعب لعمـــود قطره الداخلي بين ٠,٢-٠.٦ مم وترتفع إلي ٢٠ سم مكعب لعمـــود قطـــره الداخلي ٣مم وتتضاعف لثلاثة أمثال أي ٦٠ سم مكعب لعمود قطره الداخلـــي ٦مم .

Two-Stage Pressure Regulator



In-Line Single Stage Pressure Regulator

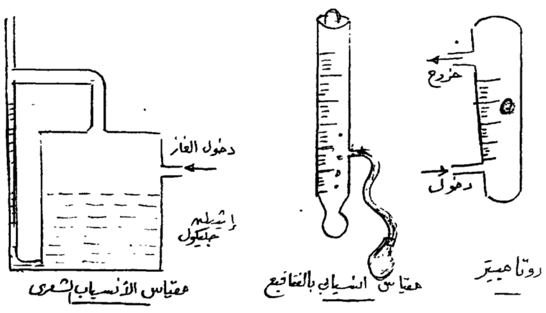


شكل رقم (٧-٧): منظم ثنائي المرحلة(Two stage regulator : Double pressure)

ويستخدم مقياس إنسياب الفقاعات(Bubble flow meter) ، شكل رقم (٧-٨) في قياس سرعة و تدفق معدل سريان الغاز عند العمود أو الكاشف من خلال توقيت أرتفاع الفقاعات لأعلي ويتركب من زراع سحاحة(Burette arm) وبطول ٥٠سم ومزود بإنتفاخ مطاطي(Rubber bulb) سعة ٣٠ ملل يملأ بالصابون السائل وعند ضغطه تنفرد منه فقاقيع ترتفع بالزراع بفعل ضغط الغاز الذي يعني زيادة معدل السريان أي نقص وقت الفصل . وتعد عملية ضبط معدل سريان الغاز عملية هامة لإتمام فصل مكونات العينة في وقت مناسب فزيادة معدل سريان الغاز تؤدي إلي خفض الوقت اللازم للفصل ولكن يجب وألا يزيد معدل السريان عن حد ما وإلا إنخفضت كفاءة الفصل .

أما مقياس التدفق الشعري(Capillary flow meter) والذي يسمح بمرور الغاز من الفتحة المبينة بالرسم وقياس الإرتفاع بالأنبوب الشعري والذي يتناسب طرديا مع سرعة سريان الغاز .

أما مقياس السريان بالعوامة(Float flow meter) فعبارة عن أنبوبة زجاجية تجويفها الداخلي يستدق قليلا من أعلي إلي أسفل وبداخله كرة جوفاء:عوامة (Float) يدفعها الغاز عند مروره لأعلي حتى يتعادل وزنها مع قوة الدفع فيشير إرتفاعها إلي سرعة سريان الغاز (Rate flow) .



شكل رقم (٧-٨) : بعض أجهزة (مقاييس) إنسياب الغاز

وللحصول علي فصل ممتاز يجب :

- ضبط معدل سريان الغاز الخامل علي رقم ثابت في عـــداد الضغـــط بالأسطوانة وهو أعلي بحيث يسمح لمنظم الغاز أن يعمل بطريقة مناسبة.
- أن يكون العمود متصل بإحكام بمكان الحقن لمنع تسرب الغاز .
- عموما يفضل إستخدام معدل سريان عالي نوعا ما لتقليل وقت التحليـل حتى حد معين بعده تؤدي الزيادة في معدل السريان إلي خفـــض كفـــاءة الفصل بدرجة واضحة .

الصفات الواجب توافرها في الغاز المستخدم :

يجب توافر عدة صفات أساسية في الغاز المستخدم كطور متحـــرك عـــلاوة علي تفاوت هذه الصفات بالنســـبة لنوعيـــة الأعمـــدة (عاديـــة أو شـــعرية) وأطوالها وأقطارها ونوعية المادة المعبأ بها وقطر حبيباتها مثل :

١-درجة لزوجة الغاز (Gas viscosity) حيث تؤثر درجة لزوجة الغاز علـــي معدل سريانه (Flow rate) مما يؤدي بدوره علي تغير إستجابة الكاشف. وهنـــا يجب الأخذ في الإعتبار أن درجة لزوجة الطور الغازي تزداد بزيادة درجـــة الحرارة (عكس السوائل) ومن أمثلتها :

*غاز الهليوم والنيتروجين : ولهما درجة لزوجة عالية ومعدل سريان منخفض لذا تستخدم مع الأعمدة القصيرة كبيرة المقطع .

*غاز الـــهـــيدروجـــــين : فله لزوجة منخفضة ومعدل سريان عالي لذا تستخدم مع الأعمدة الطويلة ضيقة المقطع الداخلي أو الأعمدة الشعرية .

٢-درجة نقاوة الغاز(Gas purity) : قد يحتوي الغاز علي شوائب (Impurities) كالأكسيجين والماء وهو ما يؤثر علي :

- وقت الإستبقاء: وقت الحبس (Retention time : R_t) .
- درجة إستجابة الكاشف (Detector response) .
- درجة استقرار الكاشف .
- تركيب مكونات العينة .

ويمكن التخلص من الأكسيجين كما سبق باســتخدام مرشــحات خاصـــة تسمي (Oxisorb filters) .

كما يمكن التخلص من الماء والهيدروكربونات بواسطة مصـائد (Traps) معبأة بجزيئات من (Type S.A. molecular series) .

وعند تشبيع المصيدة بالشوائب فإنها تعطي رسومات غير واضحة علـــي المسجل (Recorder) وهنا يجب تسخينها علي درجة ٣٠٠ ْم /٨ ساعات مـــع مرور تيار بطيء من الغاز الحامل .

٣-انتشار الغاز Diffusion Of Gas :

- فالغازات ذات الوزن الجزيئى المرتفع (الثقيلة): تقل درجة انتشـــارها نوعا ما.
- أما الغازات ذات الوزن الجزيئى المنخفـــض(الخفيفـــة): ذات درجـــة الانتشار العالية كالهيدروجين والهليوم والتى تؤدى الى (Blerm) لذا ي{ثر استخدامها على الفصل خاصة بالاعمدة الشعرية.
،وعليه يجب و أن يكون معدل انتشار الطور الغازى معتدل.

٤-الوزن الجزيئي للغاز Molecular Weight :

حيث تفضل الغازات ذات الوزن بجزيئى المرتفع بغرض الحصول علـــى كفاءة عالية فى الفصل خاصة بالاعمدة الشعرية.

٥-التوصيل الحرارى Thermal Conductivity :

تعطى الغازات الحاملة ذات معامل التوصيل الحرارى العالى حساسية عالية للكاشف مثل كاشف الكاثاروميتر (Katharometer) .

٦- ضغط الغاز Gas Pressure :

- حيث يفضل الغاز ذو الضغط العالى خاصة اذا ما استعمل مـــع مـــادة حشو غير مرضية من حيث درجة نعومتها العالية او مع مادة ذات درجة غليان مرتفعة تحتاج لوقت ازاحة أطول.

- أما اذا استعمل مع مادة ذات درجة نعومة متوسطة أو قليلة فإنها تسمح بعدل سريان مثالى فتزداد كفاءة الفصل خاصة اذا ما استخدم مع مواد ذات درجة غليان منخفضة فتخرج بعد وقت ازاحة أقل وهنا قد يحدث تداخل للمنحنيات الناتجة (Over Lapping).

٧- التأين (Ionization):

حيث تأخذ ظاهرة التأين فى الاعتبار خاصة استخدام كاشف اللهب المتأين (FID) أو كاشف اللهب المتأين القلوى (Alkaline Flame Ionization Detector : AFID).

٨- القابلية للإنضغاط (Compressibility):

ولهذه الصفة دورها البالغ على مستوى التغيرات الحادثة فى معدل سرعة الغاز خلال العمود المستخدم فالضغط المتدرج هام لاستمرار دفع وانسياب الطور المتحرك خلال العمود حيث يكون مستوى الضغط عند بداية العمود (Pi) > من مثيله عند نهاية العمود (p) ومن هنا يستمر دفع انسياب مكونات المركب المفصول خلال العمود حيث يكون الضغط فى نهاية العمود مساوى للضغط الجوى .كالضغط عند بداية العمود هو المتحكم فى معدل الفصل الذى اذا ما رغب اسراعه فإنه يجب زيادة الضغط عند بداية العمود (Pi) و العكس صحيح .

٣- الأعمدة الكروماتوجرافية (Column Chromatography):

يعد العمود الكروماتوجرافي هو قلب جـــهاز الكرومـــاتوجرافي الغـــازي حيث يتم فصل العينة المحقونة بين الطورين :

الطور الثابت : وهو مادة الإدمصاص (المادة المدعمة) المحشو بها العمود سواء بمفردها أو مغطاة بالطور السائل (Liquid phase) .

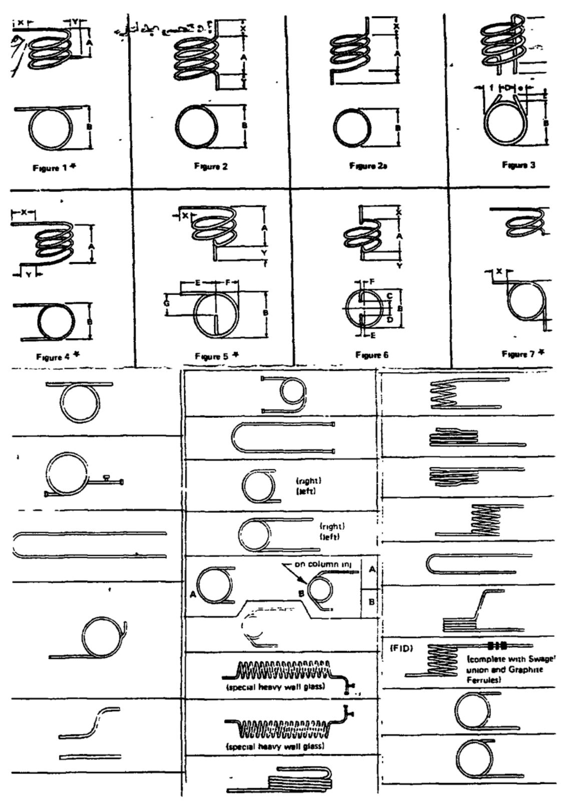
الطور المتحرك : وهو الغاز الحامل الخامل (Inert carrier gas) .

ويثبت العمود في الفرن (Oven) والمتحكم في درجة حرارته تبعاً لنوعيـــة مكونات المخلوط المراد فصله وتبعا للطريقة المتبعة فـــي التحليـل وعليـــه فإختيار العمود من حيث أبعاده وشكله ونوعية مادة الحشو والطـــور الســـائل (Liquid phase) المغلف لحبيبات مادة الإدمصاص (المـــادة المدعمـــة) مـــن العوامل المحددة لكفاءة الفصل .

وغالبا ما تتراوح أبعاد العمود في حدود ستة أقدام طولاً وقطره الخـــارجي (Outer diameter : OD) حوالي ربع بوصة أما قطره الداخلي (Internal diameter : ID) فحوالي ٥/٣٢ من البوصة أي حوالي ٢ مللم .

وغالبا ما تصنع الأعمدة مـــن الزجـــاج البورســـيليكاتي (Borsilicate) أو النحاس أو الصلب الذي لا يصدأ أو الألومينيو أو التيفلون (Teflon) والأخـــير باهظ الثمن . أما الأعمدة المعدنية فلم ينتشر إستخدامها كثـــيراً خاصـــة فـــي تحليل السموم المختلفة و بالأخص المبيدات أو المـــواد الحساســـة الأخـــري كالمضادات الحيوية لأنها تزيد من معدل درجة إنهيارها خاصة علي درجـــات الحرارة المرتفعة وهنا لابد من إجراء عملية السيللة (Silylation) والتي سيأتي ذكرها فيما بعد لذا فالأعمدة الزجاجية هي الأكثر شيوعا وإنتشـــاراً لتجنـــب الإدمصاص عليها أو إنهيار العينة خلالها .

حيث يختلف شكل العمود من جهاز لآخر متبعا لتصميم الفرن بالجـــهاز بل يختلف من موديل لآخر،كما بالشكل التالى رقم (٧-٩) فقد يـــأخذ الشـــكل المستقيم أو شكل حرف (U-shaped) أو حرف (W) أو تكـــون حلزونيـــة أو الشكل الدائري الملفوف (Coiled).



شكل رقم (٧-٩) : الأشكال المختلفة للأعمدة الكروماتوجرافية

كما تقسم أعمدة الكروماتوجرافى تبعا لنوعية تجهيزها فتقسم مـــن حيــث طبيعة نوعية تجهيزها إلى :

١-أعمدة معبأة (Packed column) :

- وهى أعمدة ذات كفاءة و قوة فصل محدودة نوعا ما ولهذا غالبـــا ما تستخدم فى الفصل الروتينى.
- ويتراوح طولها بين ٣-١٠ قدم وقطرها الداخلى (I.D) يـــتراوح بين ٢-٥مللم.

٢-أعمدة محضرة (Preparative columns) :

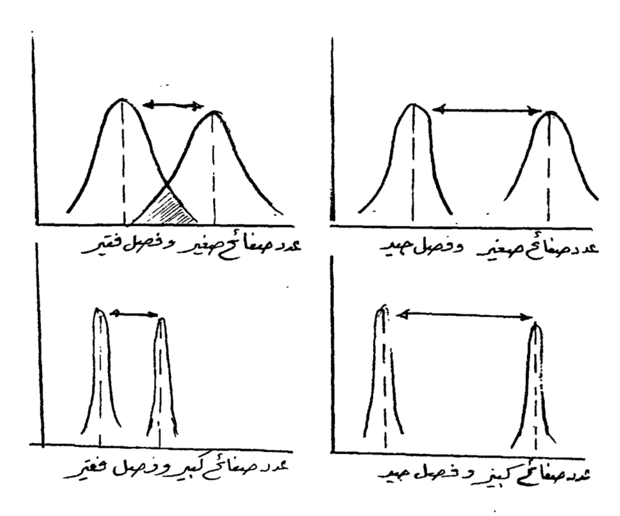
- وهى أعمدة ذات أطوال مختلفة و لهذا تتفاوت قوة فصلها تبعـــا لطولها أي تبعا لعدد الصفائح النظرية الكليـــة (Total Number of Theoretical plates) وتستخدم في طرق تحليل مختلفة .
- وهى ذات أطوال مختلفة وأنصـــاف أقطـــار داخليـــة متفاوتـــة (١٨-٢٤مللم).

٣- أعمدة شعرية (Capillary Columns):

- وتتميز بكفاءة فصل عالية جدا لطولها الكبير والفصـــل بـــدون ظهور أكتاف والكمية المحقونة بها قليلة جدا .
- فزيادة طول هذا النـــوع مـــن الأعمـــدة والـــذى يـــتراوح بيـــن (٥٠-١٠٠) قدم يزيد من إمكانية الفصل القوى لزيادة عدد الصفـــائح النظرية ولهذا يفضل استخدامها مع المخاليط المعقدة والمخـــاليط ذات التركيزات الضئيلة جدا ، شكل رقم (٧-١٠) فالأعمدة الأكثر طـــولا أكثر كفاءة في الفصل فتزداد الكفاءة مع الجـــزر الـــتربيعي لطـــول العمود حيث :

كفاءة الفصل(Resolution Efficiency)=[طول العمود(Column length)] ٢/١

- كما أنها حساسة جدا لعملية التحميل الزائد (Over Loading) لـــذا فهي غير عملية فالاعمدة ذات التحميل الخفيف أكثر كفاءة فى الفصـــل من مثيلتها ذات التحميل الذائد .
- يتراوح قطرها الداخلى بين ٥, - ١ مللم.



شكل رقم (٧-١٠) : تأثير عدد الصفائح علي كفاءة الفصل وفاعلية العمود

وللتمكن من حقن كمية قليلة جدا بها يتم بطريقتين :

- كأستعمال فاصل للحقن (Splitting injector) والذي يفصل العينة بعد تبعثرها فيسمح لكمية قليلة فقط بدخول العمود .
- أو التخفيف بمذيب درجة غليانه منخفضة مع استخدام محقن جروب (Grob Splitters inject) الذى يقوم بتخفيف العينة فى منطقة الحقن ثم تتكثف مرة أخرى عند مقدمة العمود فيتبخر المذيب بحرارة الفرن تاركا خط أو شريط من المادة مركزة بقوة فيفصل فى صورة منحنيات ضيقة القاعدة .

كما تقسم أعمدة الكروماتوجرافي تبع لنوعية المادة الدعامية إلي، جـــدول رقم (٧-٤) :

١-أعمدة مغطاة الجدار (Wall Coated Open Tubular : WCOT) :

أعمدة أنبوبية جدارها الداخلي مغطي فتعطي كفاءة عاليـــة فـــي الفصـــل خاصة بحالات الفصل الصعبة ولكن يعيبها سعتها القليلة من العينة و إرتفـــاع ثمنها وتصنع عادة من الزجاج وقد تستخدم السيليكا المنصهرة (Fused silica) في تصنيعها .

٢-أعمدة ذو مادة دعامية مغطاة (Support Coated Open Tubular: SCOT) :

وهي أعمدة أنبوبية مفتوحة معبئة بمادة دعامية مغطاة بطبقة رقيقة مـــن الطور الثابت وتستخدم مع العينات الصغيرة جدا إلا أن كفاءتـــه أقـــل مـــن السابقة وفي نفس الوقت أعلي كثيرا عن الأعمدة المعبأة العادية كما أن ثمنـــها أقل من السابقة .

٣-أعمدة ذات مادة مالئة مثقبة (Porus Layer Open Tubular : PLOT) :

وهي أعمدة أنبوبية مفتوحة معبأة بمادة دعامية مســـامية مغطـــاة بطبقـــة رقيقة من الطور الثابت المرتبط معها تساهميا .

٤-أعمدة دقيقة معبأة (Micro Packed Columns : MPC) :

وهي أعمدة أنبوبية مفتوحة ذات قطر داخلي ضيق وكفاءتها فـــي الفصـــل أعلي من الأعمدة المعبأة العادية ومقبولة الثمن .

جدول رقم (٧-٤) : الأعمدة المختلفة والصفات المميزة لها :

نوع العمود	الكفاءة	السعة	سهولة الإستعمال	سهولة التحضير	سرعة التحليل	الثمن
أعمدة مغطاة الجدر (WCOT)	منخفضة	عالية	سهلة جداً	سهلة جداً	منخفضة	عالي
أعمدة ذات مادة دعامية مغطاة(SCOT)	عالية جداً	منخفضة	تتطلب مهارة	متوسطة الصعوبة	سريعة	متوسطة
أعمدة ذات مادة دعامية مثقبة (PLOT)	عالية	منخفضة بدرجة بسيطة	تتطلب مهارة	صعبة	سريعة	غير متوفرة تجاريا
أعمدة شعرية (CC)	متوسطة	عالية بدرجة معقولة	بسيطة نسبيا	بسيطة	سريعة	متوسطة

تجهيز الأعمدة Column Preparation :

وتتلخص خطوات تجهيز العمود قبل أن يتم حشوه أو تعبئته (Packing) بمادة الإدمصاص : المادة المدعمة سواء بدون أو بعد تغطيتها بالطور السائل بالخطوات التالية :

١-غسيل العمود(Column washing) :

جيدا بالماء و الصابون من الداخل ثم بالأسيتون وأخيرا بمذيب مناسب كالهكسان ثم يجفف إستعدادا لحشوه .

٢-حشو العمود (Column packing) :

يتم حشوه الأعمدة بملئها بالمادة المدعمة :المدمصة Adsorpent : Support) material) والتى يتم تغليفها (Coating) بالطور السائل الثابت (Liquid phase) وبنسب معينة تبعا لنوعية مجموعة المركبات وممثلاتها المراد تحليلها بإستخدام هذا العمود ودرجة قطبيتها ويراعى عند حشو الأعمدة ما يلى:

٢-١-التجانس التام أثناء الحشو :

وعدم وجود جيوب (pocket) أو شقوق (Cracks) أو قنوات (Channels) مما يؤدى لفقد قد يكون تام فى كفاءة العمود كذلك يجب تجانس الضغط

(الكبس) فى مادة الحشو بكل مناطق العمود فلا توجد مناطق أكثر إنضغاطـــا أو أقل فتؤدى لنتائج مضللة لعدم تجانس الحشو والذى بـدوره يـؤدى لعـدم تجانس إنتظام معدل السريان للطور المتحرك الغازى بيـن حبيبـات المـادة المدعمة ويجب الأخذ فى الإعتبار أن الأعمـدة ذات التحميـل الأقـل (Low Loading) أكثر كفاءة في الفصل من الأعمـدة ذات التحميـل العـالي (High Loading) .

٢-٢-دقة حبيبات مادة الحشو :

فكلما كانت حبيبات المادة المدعمة المستخدمة فى الحشو دقيقة و مـدى التفاوت فى أحجامها قليل كلما زادت كفاءة الفصل (Resolution Efficiency) وذلك يعزي إلى أنه كلما زادت دقة حبيبات مادة الإدمصـاص كلمـا زادت مساحة المسطح الخارجى لها بالنسبة لوحدة الوزن مما يؤدى بدوره لزيـادة مساحة مسطح الإدمتصاص فتزداد كفاءة الفصل ويقل فى نفس الوقت زمـن الإستبقاء : وقت الحبس (Retention time : R_t) .

كذلك يجب وأن تكون حجم الحبيبات في مدي ضيق و متماثل وغالبا مـا يفضل المدى بين ٨٠-١٠٠ مش فيزداد مساحة مسطحها الخـارجي وتقـل بدورها المسافات البينية بين الحبيبات كما أن ضيق هـذا المـدى لا يحـدث تفاوت كبير وهو ما يؤدي في النهاية إلي معدل سريان منتظم للغاز .

وعليه يعتمد الفصل علي وحدة حجم جزيئات المـادة الدعاميـة وتماثلـها (Uniformity) لتأثيرها علي معدل سريان الغاز وكفـاءة الفصـل فالجزيئـات الدقيقة جداً وذات حجم واحد تضفي علي العمود كفاءة فصل عالي ولكنها فـي نفس الوقت تعوق من سرعة سريان الغاز خلال العمود ولهذا تستخدم المـواد الدعامية ذات مدي معقول من حيث القطر مثل :

٦٠-٨٠ مـش و ٨٠-١٠٠ و ١٠٠/٨٥ و ١٢٠/١٠٠ و ١٥٠/١٢٠ و ٧٢/٦٠ و ٨٥/٧٢ مش .

ويجب وأن تكون مادة الإدمصاص خاملة كيميائيا فلا توجد بها مواضـع دالة نشطة (Active function sites) يتفاعل معها المركب المراد فصلـه ممـا يؤدي بدوره لظاهرة التذييل (Tailing) خاصة مع إرتفاع درجة الحرارة لـذا يراعي غسلها بواسطة :

٢-٢-١-بالأحماض(Acid wash) :حيث يجري غسلها بحمض الهيدروكلوريك

المخفف للتخلص من الشوائب المعدنية خاصة شوائب الحديدوز وينتج سطح غير نشط نظيف (Inactive clean surface)

٢-٢-٢-بالقلويات(Alkali wash) حيث يجري غسل مادة الإدمصاص المدعمة بواسطة هيدروكسيد البوتاسيوم ٢٠ %فتؤدي لمنع تزييل القمم خاصة للأمينات التي تحتجز جزئيا علي سطح المادة الدعامية الغير معاملة .

٢-٢-٣-أو بمادة داي ميثيل داي كلوروسيلام ذائبة في التلويـــن (Dimethyl dichloro silam /tolune) وتجري هذه المعاملة للمواد الدعامية وأيضا الأعمدة الزجاجية الغير معبئة بهدف إزالة نشاط مجموعة السلانول نتيجة تحولها . إلي سيليل إيثر (Silyl ether) فتمنع ظهور القمم المزيلة (Tail peaks) خاصة للمركبات القطبية عالية الإنصهار كتفاعل مجموعتي هيدروكسيل متجاورتين كما تمثلها المعادلة التالية :

Si-OH-O-Si-OH + $(CH_3)_2$-$SiCl_3$ → (Si—O—Si ring bridged via O—Si(CH_3)$_2$—O) + HCl

٢-٢-٤-الغسيل بالحمض والقلوي : حيث يجري الغسيل بالحمض كما سبق ثم بالقلوي وذلك بغرض التخلص من معادلة الأماكن الحامضية المتكونة عقب الغسيل بالحامض .

٢-٢-٥-الغسيل بحمض الفوسفوريك وذلك بهدف فصل الأحماض الدهنية الطيارة علي صورة حرة لإزالة القمم المزيلة فمن الضروري أن تكون المادة الدعامية المدمصة حامضية أو خاملة تماما .

٢-٣-مقاومة ميكانيكية (Mechanical strength) فيجب وان تتميز المادة الدعامية بقوة مقاومة ميكانيكية حتى تتمكن حبيبات مادة الإدمصاص من مقاومة النحات فلا تتفرد منها فتات صغيرة تؤدي بدورها إلي إحكام سد المسافات البينية فتعوق بدورها سلاسة سريان الغاز الحامل .

٢-٤-يجب وأن تتميز بدرجة ثبات حراري عالية فكلما أرتفعت درجة الحرارة التي تتحملها كلما كانت المادة أفضل خاصة مع طرق التحليل والتي تستلزم درجات حرارة عالية .

٢-٥- ويتم ملئ العمود وذلك بعد وضع سدادة من الصوف الزجاجي في إحدى طرفي العمود (Glass wool plug) بقاعدة العمود لمنع تسرب مادة الحشو أثناء التعبئة ثم تتم إضافة المادة المدعمة تدريجيا وعلي دفعات (Portions) مع التربيت (Tapping) علي جدار العمود بأنبوبة من الورق المقوي (كارتون) و بإنتظام بعد كل إضافة لتأخذ وضعها في العمود كما يجب وألا يزيد التربيت في مرة عن أخري حتى لا تنضغط إحدى دفعات الحشو عن الأخرى وتصبح عالية التحميل في هذه الدفعة بهذه المنطقة أو العكس فتصبح هشة مما يعطي في النهاية نتائج مضللة وبتمام ملئ العمود يتم وضع سدادة أخري من الصوف الزجاجي بالنهاية الأخرى للعمود .

أما في حالة الأعمدة الملفوفة (Coiled) أو الحلزونية فيتم ملئها بمساعدة شفط الهواء من الطرف الأخر للعمود وهنا يتم الملء تحت تفريغ هواء (Vacuum) ويجب ملاحظة أن كل دفعة أضيفت تم سحبها بالهواء ,أخذت موضعها تماماً .

ويجب ترك فراغين بكلتا نهايتي العمود بدون ملء أو حشو للتمدد الناجم عن وضع العمود بعد ذلك في درجات حرارة عالية بالفرن حيث أن التعبئة تمت علي درجة الحرارة المنخفضة وبالتالي لا يحدث إدماء للعمود Column) bleeding) حيث تملئ هذه الفراغات (Dead volumes) بصوف زجاجي معامل (Silanized glass wool) .

ومن الأهمية بمكان الأخذ في الإعتبار أن المادة المدمصة المدعمة التي تم حشوها قد تكون بمفردها أو بعد تغطيتها بالطور السائل وفي الحالة الثانية فتتم عملية التغطية (Coating) بإحدى الطرق التالية :

٢-٥-١-طريقة الكأس (Beaker technique) :

حيث يتم خلط المادة المدعمة لتغطيتها بالطور السائل والذائب في مذيـــب مناسب تبعاً لنوعه في كأس حيث تضاف المادة علي دفعــات مــع التقليــب المستمر الجيد ثم يتم تبخير المذيب بالهواء أو النيتروجين . ويجــب الحــذر أثناء التقليب لعدم تكسير الحبيبات خاصة إذا ما كانت مــادة الحشــو غــير مقاومة للنحات وقوة مقاومتها الميكانيكية منخفضة .

ومن أمثلة الأطوار السائلة بوليمرات السيليكون مثــل شــحم الســيليكون (Silicone grease) وصمغ السيليكون (Silicone rubber gum) ومن أمثلتها القطبية : OV-1 OV-101 SE-31 DC-200 . حيث يتم حساب نســبة المــادة المدعمــة (المالئة) واللازمة لمليء العمود و بالتالي نسبة الطور السائل اللازمة لكمية المادة المدمصة كما يلي :

وزن الطور السائل = وزن مادة الحشو . النسبة المئوية لتجهيزها

وزن المادة المدعمة = وزن مادة الحشو المطلوبة -وزن الطور الثابت

فعلي سبيل المثال عندما يراد تحضير ٥٠ جرام من مــادة حشــو ١٠ % SE-30% :

وزن الطور الثابت = وزن مادة الحشو المطلوبة (٥٠ جرام) . %للتجهيز

=٥٠ X ١٠/١٠٠ = ٥ جرام

وزن مادة الحشو =وزن مادة الحشو المطلوبة:٥٠ جرام-وزن الطور الثابت :٥جرام

= ٥٠-٥ = ٤٥ جم

أما إذا كان الطور السائل خليط من مركبين سائلين مثل ١٥ % من الطور السائل OV-17 و١٩,٥ % من الطور السائل الثاني (OV-210) فيكون :

وزن الطور السائل OV-17 = ٥٠ X ١,٥ % = ٠,٧٥ جم

وزن الطور السائل OV-210 = ٥٠ X ١٩,٥% = ٩,٧٥ جم

وزن مادة الحشو =

وزن مادة الحشو المطلوبة:٥٠ جرام-وزن الطور الثابت: ٠,٧٥+٩,٧٥= ٣٩,٥ جم

٢-٥-٢-طريقة الترشيح(Filtration technique) :

حيث يتم خلط مادة الحشو مع الطور السائل والمذاب في مذيـــب مناســب وذلك علي ورق ترشيح فوق قمع بخنر أو توضع مادة الحشـــو علـــي ورق ترشيح ثم يصب عليها الطور الثابت والمذاب في المذيب المناسب ثـــم يتـم سحب الهواء من القارورة المثبت عليها القمع فيمر الطور الســـائل المــذاب علي حبيبات مادة الإدمصاص وتفضل هذه الطريقة عند تحميل الطور الســائل وبنسبة تتراوح ١-٣ % علي المادة المدعمة ، شكل رقم (٧-١١) وتعد هذه الطريقة إمتداد لطريقة الكأس .

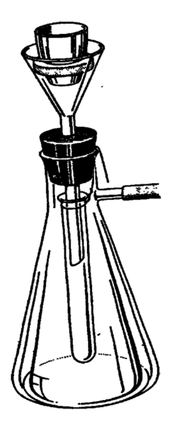
فعند تحميل ٢٥ جم من الجاز كروم(Gas Chrome Q) بواسطة١٠ % مـــن الطور السائل DC-200 وبحجم قدره ١٢٥ ملل من مذيب الكلوروفورم يكون :

حجم المذيب المترشح =١٢٥-٢٥ =٩٥ ملل

=(١٠% X حجم المذيب الذي تم حجزه علي مادة الحشو (٣٠)/

وزن المادة المالئة(المدعمة):٢٥ جم +٣٠ X ١٠ %)X ١٠٠

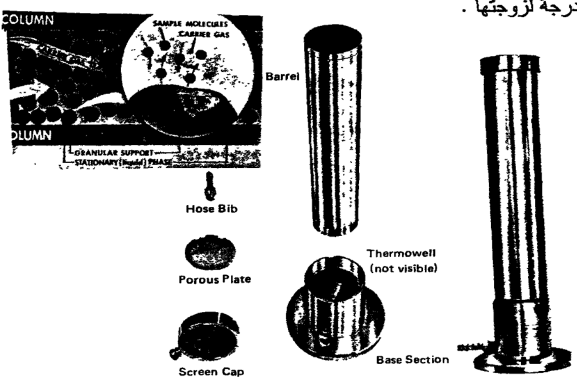
= ١٠,٧



شكل رقم (٧-١١): طريقة الترشيح لمعاملة مادة الحشو بالطور السائل

٢-٥-٣-طريقة الإسالة (Fluidization technique) :

ويستخدم هذا التكنيك مع الأطوار السائلة ذات القوام اللزج فيوضع الطور السائل في أسطوانة المسيل (Fluidizer) ن شكل رقم (٧-١٢) حيث يدخل لـه تيار شديد من النيتروجين من قاع المسيل بحيث يتخلـل المـادة المخلوطـة بالداخل في نفس الوقت يتم توصيل مصدر حراري للمساعدة علـي خفـض درجة لزوجتها .



شكل رقم (٧-١٢): المسيل وطريقة الإسالة

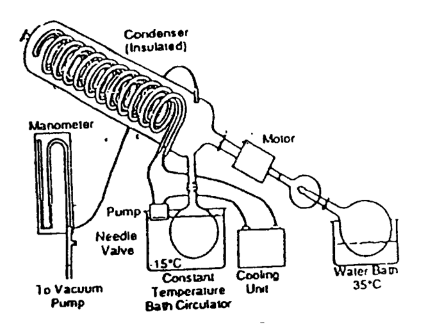
٢-٥-٤-طريقة إستخدام المبخر الدوراني (Vacuum rotary evaporation) :

وهنا يوضع الطور السائل بعد إذابته في المذيب المناسب تبعا لتركيبه فـي دورق مورتون (Morton flask) ثم تضاف إليه وزنة مـادة الحشـو :المـادة المالئة ثم يثبت الدورق في الجهاز وهو غاطس في حمام الماء ويشغل الجهاز وهنا تحدث عمليتين في نفس الوقت :

- الأولي هي خلط كل من الطور السائل ومادة الحشو المدعمة المدمصة وبتجانس تام .

- والثانية عند دوران دورق مورتون في الحمام المائي يساعد على التبخير تحت ضغط حتى لا يتأثر كلاهما .

وتفضل هذه الطريقة عندما يراد تحميل المادة المالئة بطور سائل وبنسبة كبيرة : ٥٠ % فأكثر .ولا تصلح هذه الطريقة مع مواد الحشو الهشة (Fragile) مثل الكروموسورب (Chromosorb W) حيث تؤدي لنحات وتشقق في مادة الحشو الدعامية عند دوران دورق مورتون في حمام الماء .



Vacuum Rotary Evaporator .

شكل رقم (٧-١٣) : خلط الطور السائل بإستخدام المبخر الدوراني

٣-تهيئة العمود (Column conditioning) :

يتم تهيئة العمود والذي تم حشوه(Packing) بمادة الإدمصاص الدعامية سواء بمعاملتها أو بدون معاملتها بالطور السائل (Coating by Liquid phase) حتى يصبح جاهز لإستخدامه في الفصل بإحدى الطرق التالية :

٣-١-التهيئة بالحرق الحراري (Heat curing treatment) :

وهنا يثبت العمود في فتحة الدخول فقط (Inlet port) في الفرن بينما تترك فتحة الخروج (Outlet port) والمؤدية للكاشف (Detector) حرة بالفرن وبهذه الطريقة فإن إدماء العمود لا يصل للكاشف بل يكون خروجه في الفرن .

ويمرور الغاز الحامل وبمعدل ٥٠-٦٠ ملل / دقيقة مع رفع درجة حرارة الفرن حتى ٤٠-٥٠ درجة مئوية أعلي من الدرجة التي يتم عليها التقدير ويستمر ذلك لمدة ٧٢ ساعة ويجب ألا تتعدى هذه الدرجة هذا المدى (درجة التقدير +٤٠-٥٠ م) حتى لا تتأثر مادة الحشو .

وتعد هذه التهيئة كفيلة بالتخلص من الشوائب المتطايرة (Volatile impurities) وكلما زاد وقت التهيئة كلما تلاشي تلوث الكاشف . كما تعد هذه الطريقة أساسية مع الأعمدة ذات مادة الحشو المغطاة بالأطوار السائلة التالية:

- DC-200 .
- QF-1 .

ولكنها ليست بذات درجة الأهمية من حيث إجرائها مع الأعمدة ذات مادة الحشو المغطاة بالأطوار السائلة التالية:

- OV-1 .
- OV-17 .
- SP-2401 .

أما في حالة إستخدام كاشف الإلتقاط الإليكتروني (Electron Capture Detector : ECD) فإن فترة التهيئة بالحرق الحراري تستمر علي الأقل لفترة ثلاثة أيام وعلي درجة حرارة ٢٥-٥٠ م أقل من درجة الحرارة القصوي التي يتحملها الطور السائل (Liquid phase) .

و بعد الإنتهاء من فترة التهيئة يتم توصيل الطرف الأخر للعمود (فتحة الخروج) بالكاشف .

٣-٢-التهيئة بالسيللة (Silylation treatment) :

حيث يعامل العمود الذي تم حشوه بمادة الإدمصاص بواسطة مخلوط السيللة (Silylation mixture : Silyl 8) أو بواسطة مركب بس -تراي ميثيل سيليل أسيتاميد (BSA : bis-trimethyl silyl acetamide) وذلك بغرض تفاعلها مع المناطق أو المواضع النشطة بالعمود فتؤدي إلي إزالتها حيث تقوم بتغطية أو سد (Block) هذه المواضع والتي يمكن وأن تدمص بعض من جزيئات المركب خاصة إذا ما كانت الأعمدة معدنية كعمود الألومنيوم كذلك أيضا تجنب تدهور مادة الحشو المالئة وبالتالي تجنب تدهور مكونات العينة المفصولة .

وتجري عملية السيللة والعمود مثبت أيضا في فتحة الدخول في الفرن بينما فتحة الخروج والتي تتصل بالكاشف تظل حرة في الفرن .

وتتم عملية السيالة من خلال الحقن بأربعة حقنات متتالية كل منها ٢٥ ميكروليتر سيليل ٨ علي درجة حرارة ١٣٠ م وبفارق زمني قدره ثلاثون دقيقة مع ترك الجهاز يعمل بعد أخر حقنة وبفترة زمنية لا تقل عن ساعتين حتى يتسنى مرورها وإزالة الذائد منها خارج العمود .

وتفضل هذه المعاملة خاصة أثناء تحليل مركبات السيكلودايينات (كالألدرين والإندرين و) فتعمل وبصفة قاطعة علي تقليل التزييل (Tailing).

وقد تجري عملية السيللة بعد التهيئة بالحرق فبعد نهاية فترة الحرق بالتسخين السابقة يتم ضبط درجة الحرارة العادية للتشغيل ثم تجري الحقنات كما سبق .

وعملية السيللة ليست ضرورية بالنسبة لحالة الأعمدة الزجاجية ولكن يمكن مصاحبتها بمعاملة بواسطة ١٠% داي ميثيل داي كلوروسيلان الذائب في الطولوين (Dimethyl dichloro silane) لمدة ١٥-٣٠ دقيقة ثم يغسل بالتولوين ثم بالميثانول المطلق ويجفف ثم يعبأ العمود ويجري ما سبق أيضا مع الصوف الزجاجي المثبت بنهايتي العمود .

أما الأعمدة المعدنية كعمود الألومنيوم والمصاحبة لكاشف الميكروكولومتريك (Microcoulometric detector) تعامل مسبقا بمادة تريس

بيفينيل فوسفات (Tries- biphenyl phosphate) لتثبيط تفاعل فريـــدل وكرافـت بواسطة الفوسفات فلا تحدث عملية ديهيدروكلورة (Dehydrochlorination).

ويمكن سيللة مادة العمود بغرض إقلال من إدمصاص جزيئات المركبـات المفصولة عليها .

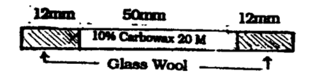
٣-٣-التهيئة بالترسيب ببخار الشمع (Carbowax vapor conditioning) :

ويتم تهيئة العمود بالترسيب ببخار الشمع لتقليـل إدمصـاص جزيئـات المركبات المفصولة علي مادة العمود خاصة عندما يكـون الـهدف فصـل مركبات هيدروكربونية عضوية أو فوسفورية عضوية محتوية علي الكـبريت في جزيئاتها مثل جزيئات أفراد سموم عائلة الفوسـفوثيويك فتعطـي بذلـك درجة إستجابة أكبر من ٧٥ % مع دقة فصل أكبر .

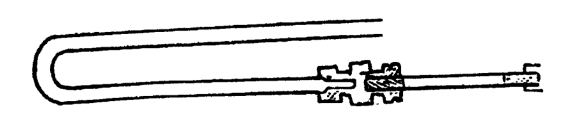
وتتم التهيئة بوضع ٥٠ ملليجرام من ٢٠% شمع كربوني في أنبوب لـه نفس قطر العمود ، شكل رقم (٧-١٤) ويثبت في النهاية الأمامية للعمود ثـم يتم توصيل العمود من الفتحة الأمامية الموجود بها الشمع الكربوني بـالفرن بينما تترك فتحة الخروج حرة بالفرن ثم يمرر الغاز الحامل وبمعدل سـريان ٥٠-٦٠ ملل / دقيقة مع رفع درجة حرارة الفرن إلي ٢٣٠-٢٣٥ م .

وبعد الإنتهاء من فترة الترسيب لمادة بخار الشمع الكربوني في صـورة غازية خلال ١٧ ساعة يتم إزالة الشمع المتبقي بالعمود بإسـتمرار سـريان الغاز وبمعدل ٢٠ ملل / دقيقة علي درجة الحرارة السابقة .

وتعطي هذه المعاملة نتائج جيدة تستمر لثلاثة شهور بعدهـا تقـل دقـة النتائج تدريجيا مع الوقت ومع الإستخدام الروتيني والمتكرر للعمـود يمكـن تهيئته مرة أخري وبتكرار ذلك عدة مرات تترسـب علـي العمـود شـموع وصبغات خاصة في البوصات الأولي منه مما يـؤدي بـدوره لإدمصـاص بعض من جزيئات المركب المفصول عليه وهنا يكون الحل الأمثل هنا هـو تفريغ وإزالة مادة الحشو المدمصة المدعمة في الست بوصات الأولـي مـن العمود وإستبدالها بمادة حشو جديدة من نفس النوع .



Corbowax tube section



شكل رقم (٧-١٤): مكان وتثبيت أنبوبة ترسيب بخار الشمع الكربوني

كيفية إختيار العمود الملائم للعمل بمعامل تحليل السموم :

يتوقف إختيار العمود الملائم للعمل علي نوع مكونات العينات المراد تحليلها في المعمل وخبرة الفني القائم بالتحليل (Chromatographer) مستندا في ذلك علي أن الأعمدة القطبية تستخدم في فصل المكونات القطبية في حين الأعمدة الغير قطبية تستخدم لفصل المركبات الغير قطبية (Like separates like) حيث ترتبط المواد القطبية بقوة أكبر بالطور الثابت القطبي عن المركبات الغير قطبية وفي نفس الوقت تحجز المركبات الغير قطبية بدرجة أكبر علي الطور الثابت الغير قطبي أو الأقل قطبية عن المركبات القطبية ومن هنا نحصل علي فصل مناسب بإستخدام طور ثابت غير قطبي أو ذو قطبية قليلة لمكونات مخلوط يتكون من مركبات تختلف في درجة قطبيتها . وعموما يختار الطور السائل الذي ينجح في فصل جميع مكونات مخلوط العينة تزداد

صعوبة مشكلة إختيار الطور السائل ولهذا يجب علي الباحث أو الفني القـــائم بالتحليل علي الرد علي الأسئلة التالية لتحديد نوعية أي عمود يســـتخدم فـــي المعمل :

- هل العمود أو العمودان أو الأعمدة المختارة لملاءمتها للعمــــل فـــي المعمل تكمل بعضها البعض من حيث سد احتياجات العمـــل الروتينيـــة بالمعمل تجاه مجموعة سموم كيميائية معينة من حيـــث قدراتـــهم علـــي فصل عدد كبير من أفراد هذه المجموعة مع أقل تداخــــل ممكــن بيــن منحنيات الفصل (Peaks) ؟

فعلي سبيل المثال العمودين التاليين :

10 % DC-200
3 % OV-1

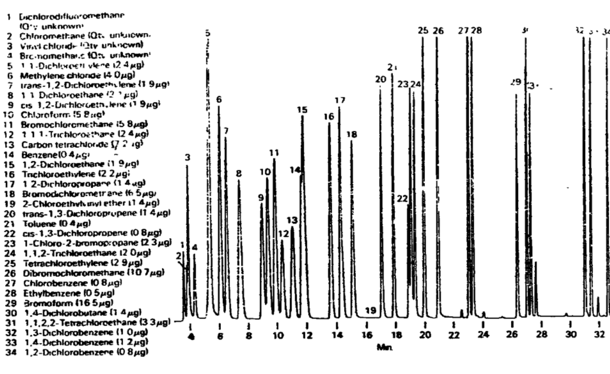
عمودان غير قطبيان لذا فقدرتهم محدودة من حيث كفاءة فصل المركبات الهيدروجينية الهالوجينية كالكلور مثلا في العينات البيئية والبيولوجية كالعينات الحيوانية والبشرية فتعطي منحنيات متداخلة مع مركبات أخري ، شكل رقم (٧-١٥) .

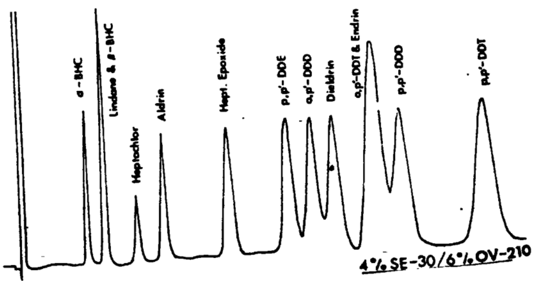
والأعمدة التالية يوصي بها في تحليل متبقيات السموم الهيدروكربونيـة العضوية والسيكلودراينات والتتراسيكلينات :

- عمود ٦قدم معبـــأ بمـــادة كروموســـورب ج١٠٠-١٢٠ مـــش عـــالي الإدمصاص ومعامل بطور سائل : 1%OV-101 .

- عمود ٦قدم معبـــأ بمـــادة كروموســـورب ج١٠٠-١٢٠ مـــش عـــالي الإدمصاص ومعامل بطور سائل :1.5 % OV-17 .

- عمود ٦قدم معبـــأ بمـــادة كروموســـورب ج١٠٠-١٢٠ مـــش عـــالي الإدمصاص ومعامل بطور سائل :2% OV-101 .





<u>شكل رقم (٧-١٥)</u> : نمط إزاحة لعمودين كروماتوجرافين

والسؤال الثاني : والذي يتبادر إلي ذهن الفني هو : هل نمط الإزاحة (Elution pattern) للعمودين أو الأعمدة المختارة والمركبات التي ستفصل بها منفصلة بوضوح كافي أم لا ؟

والسؤال الثالث : هل زمن التأخير (R_t) أو قيم زمـــن التـــأخير النســـبي (Relative Retention time : RR_t) الخاصة بـــهذه الأعمـــدة المختـــارة تحقـــق التعريف الجيد للمنحنيات الناتجة وبسهولة ؟

والسؤال الرابع : هل يمكن إستخدام أحدهم أو كلاهمـــا أو الثلاثـــة مثـــلا بغرض الحصول علي أعلي حساسية مع أقل زمن ممكن لمراعـــاة الناحيـــة الإقتصادية ؟

والسؤال الخامس :هل لهذه الأعمدة المختارة أو لأيهم فترة أطول وهو مـــا زال متمتع بحالة جيدة أم لا ؟

أمثلة لمواد الإدمصاص الشائعة في حشو الأعمدة :Packing material)

: Solid support

تختلف المواد المعبأة والمستخدمة في حشو الأعمدة : الدعامة الصلبة من حيث طبيعة تكوينها الكيميائي وتفاوت درجة قطبيتها ومن أمثلتها :

١-كروموسورب (Chromosorb) :

الكروموسورب تراب كفري (Diatomaceous) في هيئة بوليمر منقب ينخل لأحجام في المدى ١-٤ ميكرون تستخدم في أعمدة الكروماتوجرافي ومصمم لفصل مدي متفاوت من المركبات الكيميائية حيث يظهر فاعلية عالية عند تغليفه (Coating) بالطور السائل خاصة عند إستخدامه في الأعمدة الشعرية (Capillary columns).

ويقسم الكروموسورب تبعاً لنوعية غسيله إلي :

١-١-كروموسورب-ب (Chromosorp -P : acid wash : AW) :

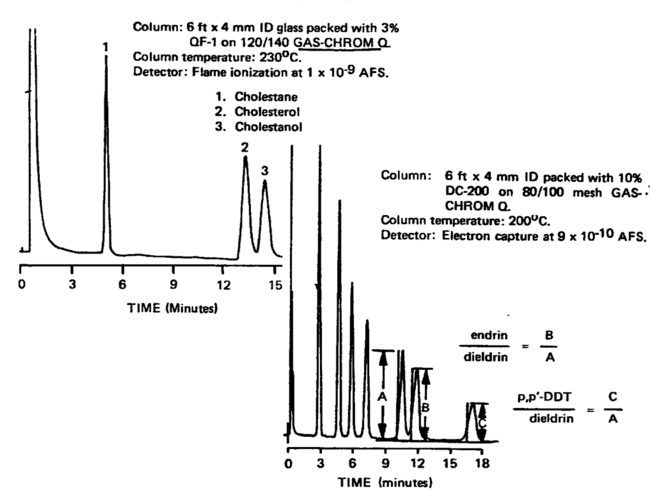
كروموسورب-ب بوليمر يتكون من (C22 fire brike) دياتومي تم غسيله بمحلول حامضي ولونه بنفسجي الغازي ويستخدم في أعمدة الكروماتوجرافي الغازي حيث يحدث الفصل بها علي السطح ولهذا تتوقف كفاءة الفصل به علي مساحة مسطح سطحه الخارجي وصفاته التركيبية والطبيعية وتتراوح حجم حبيباته في المدى بين ٨٠-١٠٠ مش ويستخدم في فصل الهيدروكربونات العضوية ويمكنه حمل ٣٥ % من الطور السائل ويستخدم كبديل لمادة الإدمصاص أناكروم(Anakrom -W) أو جاز كروم(Gas chrom-R) .

١-٢-كروموسورب(Chromosorp -AW : acid wash : AW) :

كروموسورب بوليمر دياتومي تستخدم في أعمدة الكروماتوجرافي الغازي حيث يحدث الفصل بها علي السطح ولهذا تتوقف كفاءة الفصل به علي مساحة مسطح سطحه الخارجي وصفاته التركيبية والطبيعية .وتم غسيله بمحلول حامضي وتتراوح حجم حبيباته في المدى بين ٨٠-١٠٠ مش ويستخدم في فصل الهيدروكربونات العضوية ويمكنه حمل ٢٥ % من الطور السائل ويستخدم كبديل لمادة الإدمصاص أناكروم (Anakrom -U) أو جاز كروم أ(Gas chrom-A) .

١-٣-كروموسورب(Chromosorp -AW P) :

كروموسورب بوليمر دياتومي ويستخدم فـــي أعمـــدة الكرومـــاتوجرافي الغازي حيث يحدث الفصل بها علي السطح ولهذا تتوقف كفاءة الفصـــل بـــه علي مساحة مسطح سطحه الخارجي وصفاته التركيبية والطبيعية . تم غسـيله بمحلول حامضي ثم أجريت له عملية سيللة وتتراوح حجم حبيباته في المـدى بين ٨٠-١٠٠ مش أو ١٠٠-١٢٠ مش ويستخدم في فصـــل الألكـــالويدات والإستروويدات و أحماض المرارة ويمكنه حمـــل ٢٠-٢٢ % مـــن الطـــور السائل ويستخدم كبديل لمادة الإدمصاص أنـــاكروم (Anakrom -Q) أو جـــاز كروم (Gas chrom-Q) ، شكل رقم (٧-١٦) .



شكل رقم (٧-١٦): فصل السيكلودااينات ومركبات حيوية أخري

١-٤-كروموسورب(Chromosorp -GHP) :

كروموسورب بوليمر دياتومي تســتخدم فــي أعمــدة الكرومــاتوجرافي الغازي حيث يحدث الفصل بها علي السطح ولهذا تتوقف كفاءة الفصــــل بــه علي مساحة مسطح سطحه الخارجي وصفاته التركيبيــة والطبيعيــة .و تــم غسيله بمحلول حامضي وتتراوح حجم حبيباته في المدى بين ٨٠-١٠٠ مـش ويستخدم في فصل السموم والملوثات البيئية القطبية ويمكنه حمل ٥ % مـــن الطور السائل .

١-٥-كروموسورب (Chromosorp -DMCS) :

كروموسورب بوليمر دياتومي تســتخدم فــي أعمــدة الكرومــاتوجرافي الغازي حيث يحدث الفصل بها علي السطح ولهذا تتوقف كفاءة الفصــــل بــه علي مساحة مسطح سطحه الخارجي وصفاته التركيبية والطبيعية و تم غسيله بمحلول حامضي ثم أجريت له عملية سيللة بواسطة مركب داي ميثيــل داي كلورو سيليل وتتراوح حجم حبيباته في المدى بين ٨٠-١٠٠ مش ويســتخدم في فصل السموم والملوثات البيئيــة الهيدروكربونيــة العضويــة والســموم متوسطة القطبية .

١-٦-كروموسورب-ت (Chromosorp -T) :

كروموسورب -ت بوليمر دياتومي تستخدم في أعمدة الكرومــاتوجرافي الغازي حيث يحدث الفصل بها علي السطح ولهذا تتوقف كفاءة الفصــــل بــه علي مساحة مسطح سطحه الخارجي وصفاته التركيبية والطبيعيــة ومدعــم بمادة تيفلونية (Teflon) وتتراوح حجم حبيباته في المدى بيــن ٤٠-٦٠ مــش ولهذا لها مساحة مسطح كبير جدا ويستخدم في فصل الســموم والملوثــات البيئية الهيدروكربونية العضوية والغازات الكبريتيـــة وأكاســيد الكــبريت و الميركابتانات والهيدرازينات والهالوجينات . ويمكنه حمل ٥ % من الطـــور السائل . وتبعا لدرجة مستوي حبيباته يباع تجاريا تحت أسماء تجارية مختلفة

١-٧-كروموسورب-١٠١ (Chromosorp -101) :

كروموسورب -١٠١ بوليمر دياتومي متقـــب تســتخدم فــي أعمــدة الكروماتوجرافي الغازي حيث يحدث الفصل بها علي السطح ولهذا تتوقــف

كفاءة الفصل به علي مساحة مسطح سطحه الخــــارجي وصفاتـــه التركيبيـــة والطبيعية والذي لا يحتاج إلي تغطية (Coating) إلا أن التغطية تقلل من زمن الإستبقاء للسموم والملوثات البيئية .

وصفاته القاعدية تعطيه موائمة منخفضة تجاه المركبات المحتويـــة علـــي مجاميع هيدروكسيل حيث زيادة محتوي مجاميع الهيدروكسيل وتحركها قريبـا من بعضها وهو ما يقلل وقت التأخير (الحبس) لها .

ويعطي فصل جيد و كافي من حيث قمم المنحنيات الحادة المتباعدة مــــع جزيئات السموم والملوثات البيئية الكحولية والإسترية والكيتونية والإيثيريـــة والفينيل كلوريد والإستيرين والمنيبات الكلورونية .

كما يعد هذا العمود فعال عند تحليل الكحولات في عينات الدم وممثـــلات السموم في عينات اليوريا وكذلك الأمونيا في السوائل الحيوية ،

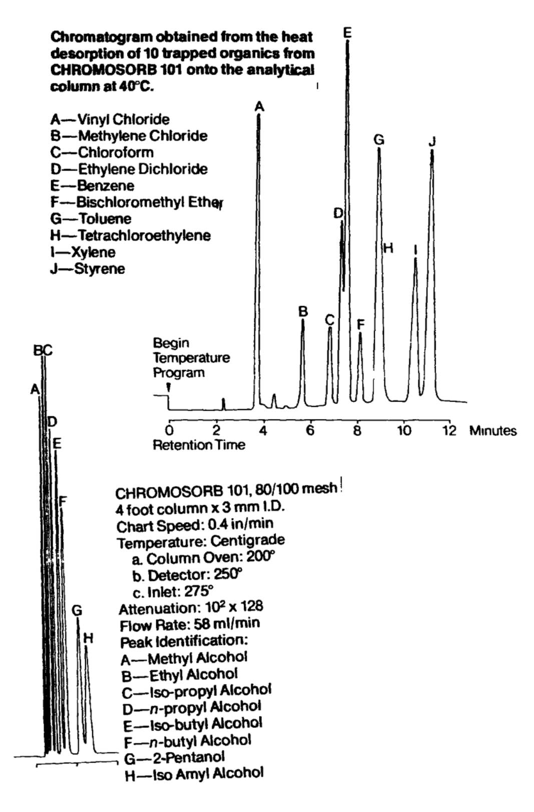
كذلك تعد منه مصـــايد (Traps) للســـموم والملوثـــات الهيدروكربونيـــة العضوية خاصة المتطايرة من المكون البيئي : الهواء ، شكل رقم (٧-١٧) .

كما تتميز أعمدته بعدم حدوث تفاعل تداخلي علي سطحه لـــذا لا يظـــهر تنييل (Tailing) مع السموم الأكسيجينية كالكحولية و الفينولات والأحماض .

١-٨-كروموسورب-١٠٢ (Chromosorp –102) :

كروموسورب -١٠٢ بوليمر دياتومي مثقب وتكوينه المثقب من النـــوع الخلوي المفتوح(Open cell variety) وهو ما يتيح لجزيئات السموم المفصولـــة دخولها وتخللها بسهولة كذلك تحميل الأطوار السائلة العالية التحميل وهو مـــا يجعل وقت التأخير عالي نسبيا ويمكن خفضها بتغليفها بالطور السائل .

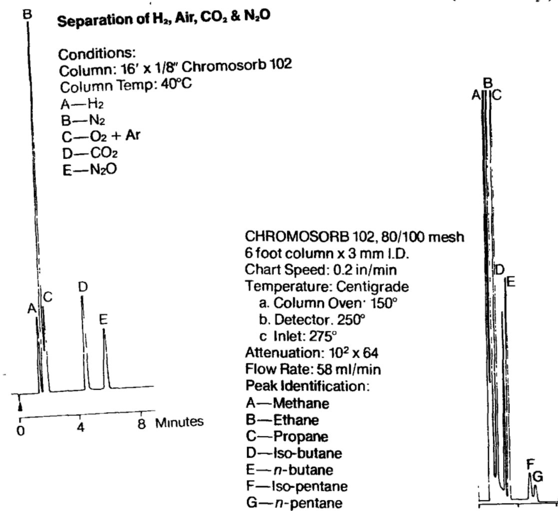
وتستخدم في أعمدة الكروماتوجرافي الغازي حيث يحدث الفصل بها علـــي السطح حيث تبلغ مساحة مسطحه حوالي ٣٠٠-٤٠٠ متر مربع /جم ولـــهذا تتوقف كفاءة الفصل به علي مساحة مســـطح ســـطحه الخـــارجي وصفاتـــه التركيبية والطبيعية والذي لا يحتاج إلي تغطية (Coating) إلا أن التغطية تقلل من زمن الإستبقاء للسموم والملوثات البيئية .



شكل رقم (٧-١٧) : أمثلة للمركبات والتي تفصل بكفاءة علي الكروموسورب ١٠١

ويمكن إستخدامه في فصل الملوثات البيئية الغازية الخفيفة والثابتــة ذات الــوزن الجزيئـــي المنخفــض كــالكحولات والإســترات والجليكــــولات والهيدروكربونات والفينيل كلوريد والنيتروجين وأكسيد النيتروز وثاني أكسـيد الكربون وكلور بنتا فلور إيثان وأوكتا فلور ميثان والفلورتراي كلورميثــان ، شكل رقم (٧-١٨) .

وتركيبه الكيميائي (Styrene-divinyl –benzene copolymer) وحبيباته صلبـــة قاسية لها ثبات عالي يتيح لها الإســـتخدام مــع الحــرارة العاليــة ٢٥٠ م (Isothermally) .

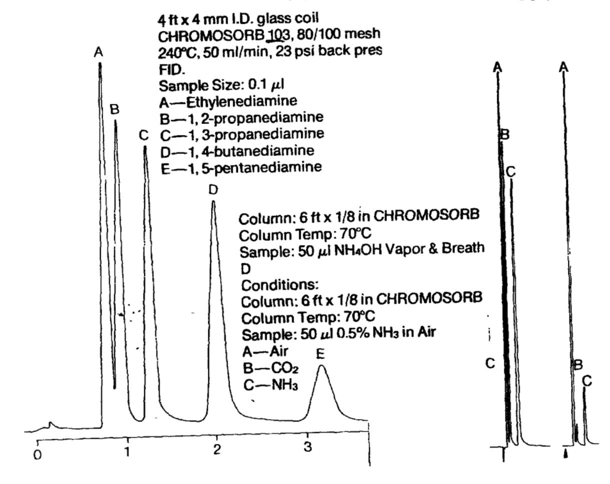


شكل رقم (٧-١٨): أمثلة للمركبات الشائعة الفصل علي عمود الكروموسورب ١٠٢

١-٩-كروموسورب ١٠٣ (Chromosorb 103) :

وهو بوليمر بولي أروماتي مثقب طور خصيصا لفصل جزيئات السموم والملوثات البيئية القاعدية والأمينية والأميدية والهيدرازينات والكحولات والكيتونات والفوسفينات والزرنيخ كما يمكن إستخدام أعمدته في إمتصاص الميثيل أمين من الغازات الخفيفة كالأمونيا فيمكن به تتبع أجزاء في المليون من الأمونيا ومركبات الزرنيخ والفوسفين والإيثانول أمين والداي ميثيل أمين والداي أيزوبروبيل أمين والأيزوبروبيل أمين والبروبيلين إيمين وكذلك تصيد المركبات الحامضية كحمض الفورميك من الهواء الجوي .

كذلك يمكن إستخدامه في تحليل ن-ميثيل -٢-بيروليدين وحمض الهيدروسيانيك والبيريدين ، شكل رقم (٧-١٩) .



شكل رقم(٧-١٩):أمثلة للمركبات المفصولة علي عمود الكروموسورب ١٠٣

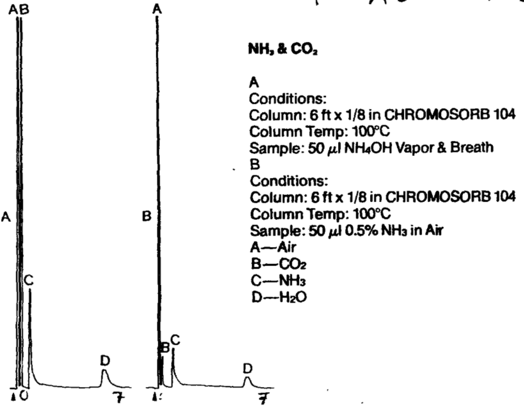
١-١٠-كروموسورب ١٠٤ (Chromosorb 104) :

وتركيبه كريزن : أكريلونيتريل داي فينيل بنزين (Resin : Acrylonitrile divinyl benzene) وله مسطح عالي القطبية .

كما يتمتع بصفات تحليلية عالية بالنسبة للغازات المحيطة متعددة الأنواع (Ambient) خاصة أنه يتحمل درجات الحرارة العالية .

ويستخدم في تحليل السموم ومتبقياتها من النـــتريلات و الــهيدروكربونات والنيترو برافينات وكبريتيد الهيدروجين كذلك الملوثات البيئية كثاني أكســـيد الكبريت وثاني أكسيد الكربـــون والفينيـــل كلوريـــد و الفينيليديـــن كلوريـــد (Vinylidene chloride) .

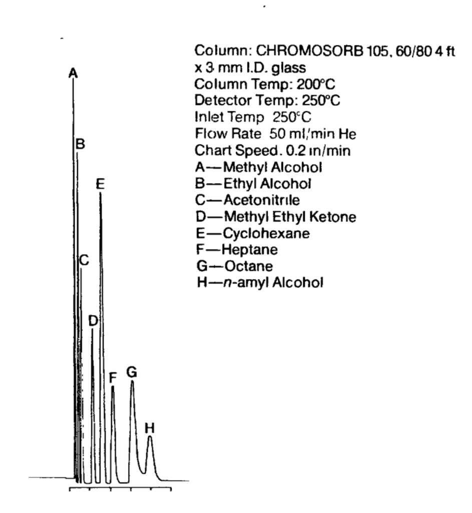
وهو عمود فعال لتحليل وفصل المركبـــات المحتويـــة علـــي مســـتويات منخفضة من الكبريت كما أنه يخرج المماكثات المشبعة أولا ثـــم المركبـــات الغير مشبعة في نفس الوقت غير مناسب لفصل الأحماض الدهنية المشـــبعة والغير مشبعة ، شكل رقم (٧-٢٠) .



شكل رقم (٧-٢٠):كروماتوجرامات فصل علي عمود الكروموسورب ١٠٤

١-١١-كروموسورب ١٠٥ (Chromosorb 105) :

وهو مادة إدمصاص بيضاء هشة سهلة السحق (Friable) وهـــي ريــزن (Cross linked poly aromatic resin) ذات مسطح سطحي كبير ٦٠٠-٧٠٠ مــتر مربع /جم . وله فاعلية عالية لفصل مركبات الأمونيوم الرباعية من الأنســجة البيولوجية وكذلك فصل الأحماض الكربوكسيلية من المحتوي الإستري كمـــا يستخدم كمصيدة لجمع المواد المتطايرة من الفضـــاء (Headspace) والمـــواد المتطايرة من مصادرها ، شكل رقم (٧-٢١) .

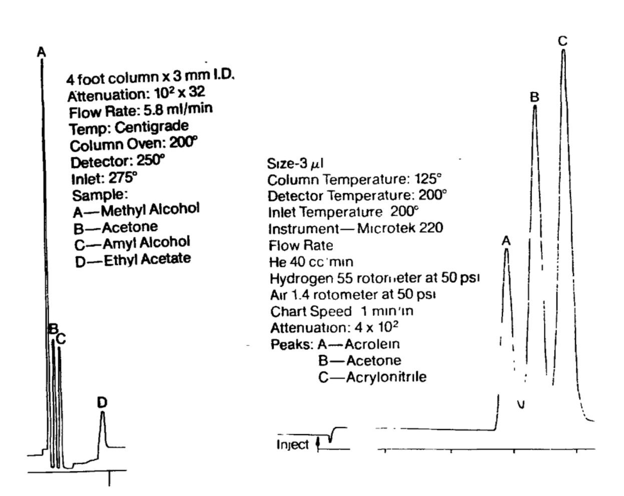


شكل رقم (٧-٢١): كروماتوجرامات للمركبات المفصولة علي الكروموسورب ١٠٥

١-١٢-كروموسورب ١٠٦ (Chromosorb 106) :

وهو ريزن بشكل حبيبات صلبـــة قاســـية (Cross linked Styrene-divinyl benzene) له مساحة مسطح عالية تتراوح بين ٧٠٠-٨٠٠ متر مربع /جـــم . ونتيجة لكون سطحه غير قطبي فإنه يؤخر جزيئات السموم والملوثات البيئيـــة العضوية الغير قطبية لمدة أطول من مثيلتها القطبية . وأعمدته ثابتة حراريـــا وحتى درجة ٢٥٠ ْم .

كما يستخدم كمصيدة للسموم والملوثات البيئية العضوية المأخوذة من هواء المن والمياه والفضاء ، شكل رقم (٧-٢٢) .

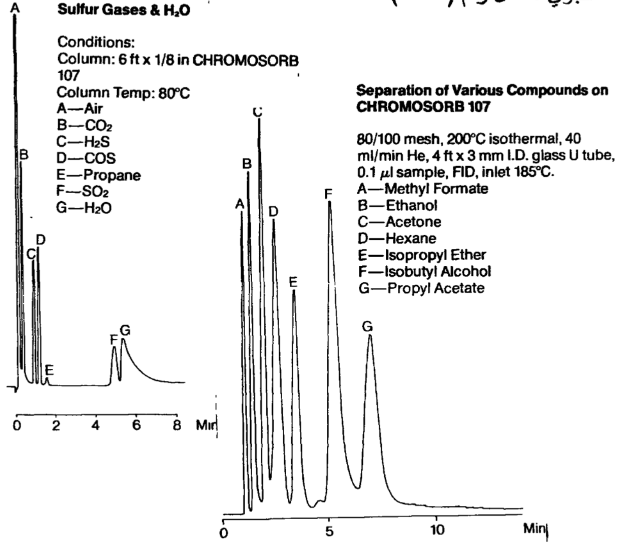


شكل رقم (٧-٢٢): أمثلة للمركبات المفصولة على الكروموسورب ١٠٦

١-١٣-كروموسورب ١٠٧ (Chromosorb 107) :

وهو مادة إدمصاص قطبية (Cross linked acrylic ester) بهيئـــة حبيبـــات صلبة قاسية وهو ما يسهل تعبئة الأعمدة بها .

وتتميز بمساحة مسطح كبير ٤٠٠-٥٠٠ متر مربع /جـــم . واعمدتـــه فعالة لفصل الملوثـــات متوســطة القطبيـــة عمومـــا كالملوثـــات الكبريتيـــة والفورمالدهيد كما يستخدم كمصيدة لتصيد وتحليل الفينيل أسيتات من الـــهواء الجوي ، شكل رقم (٧-٢٣) .



شكل رقم (٧-٢٣) : أمثلة للمركبات المفصولة على الكروموسورب ١٠٧

والجدول التالي يبين قيم وقت الأستبقاء المطلق والنسبي لبعـــض الملوثـــات البيئية :

جدول رقم (٧–٥) : قيم وقت الأستبقاء المطلق والنسبي لبعض الملوثات :

كروموسورب/ملوث	١٠١	١٠٢	١٠٣	١٠٤	١٠٥	١٠٦	١٠٧	١٠٨
هواء	٠,٤٢ صفر	٠,٤٢ صفر	٠,٣٤ صفر	٠,٣٤ صفر	٠,٣٤ صفر	٠,٤٧ صفر	٠,٤٠ صفر	٠,٣٩ صفر
ميثان CH_4	٠,٥١ ٠,١١	٠,٥٣ ٠,١٥	٠,٣٧ ٠,١١	٠,٣٨ ٠,١٦	٠٤٣ ٠,١١	٠,٦٩ ٠,١٣	٠,٥٠ ٠,١٣	٠,٤٦ ٠,١٣
ثاني أكسيد الكربون CO_2	٠,٧١ ٠,٣٦	٠,٧٢ ٠,٤٠	٠,٤٧ ٠,٤٦	٠,٦٣ ١,١٦	٠,٦٩ ٠,٤٤	١,٠٥ ٠,٣٤	٠,٩٢ ٠,٦٩	٠,٨٠ ٠,٧٧
إيثان C_2H_6	١,٢٢ ١,٠	١,١٧ ١,٠	٠,٦٢ ١,٠	٠,٦٣ ١,٠	١,١٤ ١,٠	٢,١٦ ١,٠	١,١٥ ١,٠	٠,٩٢ ١,٠
إيثين C_2H_4	١,٠١ ٠,٧٤	٠,٩٨ ٠,٧٥	٠,٥٦ ٠,٧٩	٠,٥٩ ١,٠	٠,٩٥ ٠,٧٦	١,٦٩ ٠,٧٢	١,٠٣ ٠,٨٤	٠,٨٥ ٠,٨٧
إيثاين C_2H_2	١,٠ ٠,٧٣	٠,٩٦ ٠,٧٢	٠,٦٠ ٠,٩٣	٠,٩٢ ٢,٣٢	١,٠٨ ٠,٩٣	١,٥٦ ٠,٦٤	١,٥٢ ١,٤٩	١,٣٨ ١,٨٧
أكسيد نيتروز N_2O	٠,٨٤ ٠.٥٣	٠,٨٤ ٠,٥٦	٠,٥٢ ٠,٦٤	٠,٦٤ ١,٢٠	٠,٧٨ ٠,٥٥	١,٢٤ ٠,٤٦	٠,٩٢ ٠,٧٩	٠,٨٣ ٠,٨٣
SF_6	٠,٨٥ ٠,٥٤	٠,٨١ ٠,٥٢	٠,٥٠ ٠,٥٧	٠,٤٠ ٠,٢٤	٠,٨٣ ٠,٦١	١,٦١ ٠,٦٧	٠,٩٩ ٠,٧٩	١,٩٣ ٠,٥٧
كبريتيد الهيدروجين H_2S	١,٨١ ١,٧٤	١,٧٥ ١,٧٧	٠,٤٨ ٠,٥٠	١,٦٢ ٥,١٢	١,٨٣ ١١,٨	٢,٧٧ ١,٣٦	٢,١٩ ٢,٣٩	١,٩٣ ٢.٩١
COS	٢,٥٨ ٢,٧٠	٢,٤٣ ٢,٦٨	١,٢٧ ٣,٣٢	١,٤٢ ٤,٣٢	٢,٥٦ ٢,٧٨	٤,٦١ ٢,٤٥	٢,٧٢ ٣,٠٩	٢,١٣ ٢,٢٨
ثاني أكسيد الكبريت SO_2	يتفاعل	يتفاعل	٠,٤٧ ٠,٤٦	يتفاعل	٥,١٥ ٦,٠١	يتفاعل	١٠,٦ ١٣,٦	٨,٠٠ ١٤,٤
بروبان C_3H_8	٣,٦٤ ٤,٠٣	٣,٢١ ٣,٧٢	١,٣٦ ٣,٦٤	١,٢٠ ٣,٤٤	٣,٦٥ ٤,١٤	٧,٧٣ ٤,٣٠	٣.٥٢ ٤,١٦	٢,٤٧ ٣,٩٢
بروبين C_3H_6	٣,٢٨ ٣,٣٧	٢,٩٥ ٣,٦٤	١,٣٦ ٤,٢٠	١,٣٩ ٣,٧٩	٣,٣٧ ٣٦٥	٦,٦٤ ٤,١٥	٣,٥١ ٣,٧٥	٢,٣٨ ٣,٧٣

٢-جازكروم (Gas chrom) :

وهي مادة إدمصاص تصنع من التراب الكفري الأبيض المحتوي علـــي هياكل (Miniscule sk.) للدياتومات والطحالب الميكروسوميـــــة (Microscopic algae) حيث جدرها عبارة عن سيليكا نقية متكلسة ومكثفة مع كميات صغـيرة متفلورة (Fluoc) في صورة ثقوب بيضاء .
وغالبا ما تستخدم مع ١٠ % أبيرون (Apieron) لفصل إســترات الميثيــل للأحماض الأمينية والأحماض الدهنية خاصة مــع كاشــف اللــهب المتــأين (Flame Ionization Detector : FID) ومن أمثلتها :

٢-١-جازكروم أ (Gaschrom A) :
ويستخدم بعد غسيله بالحمض لإزالة كتل الملوثات الغـــير عضويـــة ثـــم الغسيل بالماء لمعادلة الحمض الذائد .

٢-٢-جازكروم-ب(Gaschrom P) :
عبارة عن جازكروم أ ولكن ثم غسيله بقلوي لإزالة كتل الملوثات الغـــير عضوية ثم الغسيل بالماء لمعادلة القلوي الذائد .

٢-٣-جازكروم-ز(Gaschrom Z) :
ويصنع بمعاملة جازكروم أ بمركب داي ميثيل داي كلوروسيلان لعـــزل المناطق النشطة علي أسطح المادة .

٢-٤-جازكروم-ر (Gaschrom R) :
ويصنع من التراب الكفرى ولكنه يختلف عن الــتراب الكفــري الأبيــض فحبيباته حمراء متكلسة وله مساحة مسطح ٤متر مربع/جـــم وتســـتخدم مـــع السموم الهيدروكربونية العضوية الغير قطبية . وعند غسيله بحامض يســـمي جازكروم-رأ (Gaschrom R..AW) في حين يسمى (Gaschrom R2) عندما يتـم غسيله بحامض ثم يعامل بمركب DMCS.

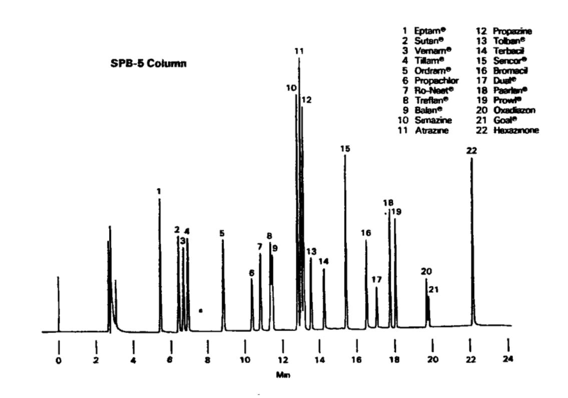
٢-٥-جازكروم Q (Gaschrom Q) :

حيــث يتــم نخلـــه بعنايـــة (٦٠/٨٠ أو ٨٠/١٠٠أو ١٠٠/١٢٠ أو ١٢٠/١٤٠ مش) ويعامل سطحه لعزل الشوائب والمراكز النشــطة وعــزل المواد المحفزة لإنهيار متبقيات السموم كما يمتاز بعدم وجود تزييل .

وستخدم مع الطور السائل :

- 3% QF-1
- 10 % DC-200

ويفضل في فصل السموم الهيدروكربونية البارافينيـــة وكذلــك المــواد المضادة للإنقباضات مثل ميثيل أو إيثيل سوكسيميد(methyl /ethyl suximide) والباربيتيورات والكوليسترول ، شكل رقم (٧-٢٤) .



شكل رقم (٧-٢٤): أمثلة للمركبات المفصولة علي الجازكروم

٣-ديوراباك (Durapack) :

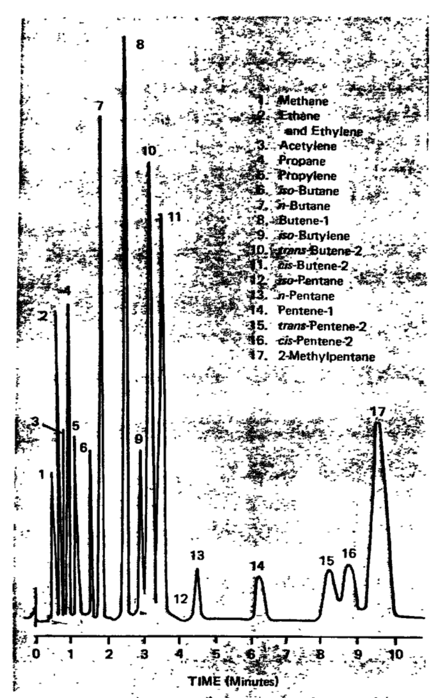
وتتكون من مجموعة دالة واحدة مرتبطة كيميائيا مع البوراسيل (Porasil) .
وتكون في صورة حبيبات كروية مثقبة وتراوح كمية الطور السائل المرتبط بها من ٢-٨ % وذلك تبعا لمدى درجة حبيباتها . وتفضل كمادة حشو للأعمدة لسرعتها المثلي والتي تتراوح بين ٦-١٠ سم/ثانية عند معدل سريان للغاز يتراوح بين ٦٠-١٠٠ ملل/ دقيقة بالأعمدة ذات القطر ٠,٢٥

وعليه يتميز بالصفات التالية :

- سرعة تحليل تصل إلي ٥٠ صفيحة نظرية / ثانية .
- كفاءة فصل عالي بقمم حادة فكفاءتها لا تعتمد علي ظروف العمل .
- لها القدرة علي إعادة نفس النتائج .
- سهلة من حيث تعبئة (حشو) الأعمدة بها .

ويوجد للديوراباك عدة أنواع تختلف تبعا لدرجة قطبيتها،شكل رقم(٧-٢٥):

- OPN/Porasil C : متوسط القطبية ويستخدم لفصل المتبقيات المتفاوتة ??? ?????
- N-Octane/ Porasil C قطبي ويستخدم لفصل الهيدروكربونات من ١-٥ ذرة كربون .
- Carbowax400/ Porasil :غير قطبي ويستخدم لفصل المتبقيات القطبية .
- Carbowax400/ Porasil F : غير قطبي ويستخدم لفصل المتبقيات ذات الوزن الجزيئي العالي ودرجة الغليان العالية .



Separation of hydrocarbons. Compounds separated: See list above Column: 1.5 m x 2.3 mm ID packed with DURAPAK n-Octane PORASIL C (120/150 mesh). Column temperature 25°C. Detector Flame ionization. Carrier: Nitrogen at 25 ml/min.

شكل رقم (٧-٢٥): أمثلة للمركبات المفصولة علي الديوراباك

٤-بوراباك (Porapak) :

وتتميز مادة الحشو المدمصة بدرجة قطبيتها العالية وهي بوليمرات قاعدية مثقبة ومطورة بمواد مطورة (Modifiers materials) لتعطي فترات تأخير مختلفة :

- بوراباك (P) : وهي بوليمر إستيرين داي فينيل بنزين وقطبيتها قليلة وتستخدم لفصل الكربونيلات والكحولات والجليكولات . تبلغ مساحة مسطحها ١٠٠-٢٠٠ م^{٢}/جم وكثافتها ٠,٢٧جم/سم^{٢} وتعمل علي درجة حرارة ٢٥٠ ْم .

- بوراباك (Q) : وهي بوليمر إيثيل فينيل بنزين وقطبيتها قليلة وتستخدم لفصل الهيدروكربونات العضوية و أكاسيد النيتروجين . تبلغ مساحة مسطحها ٤٥٠-٦٠٠ م^{٢}/جم وكثافتها ٠,٣٠ جم/سم^{٢} وتعمل علي درجة حرارة ٢٥٠ ْم .
- بوراباك (R) : وهي بوليمر وقطبيتها متوسطة وتستخدم لفصل الإسترات والإيثيرات والكلورين وكلوريد الهيدروجين . تبلغ مساحة مسطحها ١٠٠-٢٠٠ م^{٢}/جم وكثافتها ٠,٣٠ جم/سم^{٢} وتعمل علي درجة حرارة ٢٥٠ ْم .

- بوراباك (S) : وهي بوليمر وتستخدم لفصل الكحولات . تبلغ مساحة مسطحها ٣٠٠-٤٥٠ م^{٢}/جم وكثافتها ٠,٣٥ جم/سم^{٢} وتعمل علي درجة حرارة ٢٥٠ ْم .

- بوراباك (N) : وهي بوليمر وتستخدم لفصل بعض الملوثات كثاني أكسيد الكربون والأمونيا وهيدروكربونات أخري . تبلغ مساحة مسطحها ٢٢٥-٣٢٥ م^{٢}/جم وكثافتها ٠,٣٨ جم/سم^{٢} وتعمل علي درجة حرارة ١٩٠ ْم .

▪ بوراباك (T) : وهي بوليمر ذو طبيعة قطبية عالية وتستخدم لفصل بعض الملوثات الألدهيدية كالفورمالدهيد . تبلغ مساحة مسطحها ٢٥٠-٣٥٠ م٢/جم وكثافتها ٠,٤٣ جم/سم ٣ وتعمل علي درجة حرارة ١٩٠ْم.

وتمتاز البوراباك بالصفات التالية :

- مساحة مسطح عالي وكفاءة فصل عالية
- سهولة حشو الأعمدة بها
- لا تدمص المركبات القطبية ويفصل الماء من المواد العضوية.
- لاتدمي بالأعمدة (Not-bleeding) .
- له معدل إسترجاع تحميلي عالي .
- له ثبات حراري عالي .
- يمكن تغطيته بالأطوار السائلة الثابتة .
- يمكن عمل خلائط منها تعطي تفاوت كبير في درجة القطبية مثل PS & QS والتي يوصي بها لتحليل المركبات التي تظهر تزييل كالجليكولات والأحماض الدهنية الحرة .

٥-بوراسيل (Porasil) :

مادة حشو خاملة مدعمة دائرية (Spherical siliceous) لها ستة أنواع ولها حجم ثقوب يبلغ متوسط نصف قطرها ٨٠ أنجستروم ويزداد ليبلغ ٣٠٠٠ أنجستروم مع الحبيبات ذات مساحة السطح ١٠ متر مربع /جم فكلما إنخفضت مساحة السطح الخارجي زاد حجم الثقوب وبالتالي إنخفض معدل التأخير خاصة مع المركبات المتطايرة .

ومساحة مسطح خارجي كبير في حدود ٤٠٠ متر مربع /جم وتنتج فصل جيد (High resolution) مع فترة تحليل قصيرة (Short analysis time) كما تعطي للعمود فترة حياة أطول .

بوراسيل (A): تبلغ مساحة مسطحها ٤٨٠ م٢/جم ويبلغ حجم الثقوب ١٠٠ أنجستروم وتفصل عليها الملوثات الغازية وتمتاز بكبر نشاطها مع فترة حبس أطول .

بوراسيل (F) : تبلغ مساحة مسطحها ١٠٥ م٢/جم ويبلغ حجم الثقوب ١٥٠٠ أنجستروم وتفصل عليها الملوثات العالية درجة غليانها

ونشاطها أقل مع فترة حبس أقصر ويمكن إستخدام الأطوار السائلة التالية معها : SE-30 DEGS.

بوراسيل (B): تبلغ مساحة مسطحها ٢٠٠ م٢/جم ويبلغ حجم الثقوب ١٠٠-٢٠٠ أنجستروم وتفصل عليها الملوثات الغازية .

بوراسيل(C) : تبلغ مساحة مسطحها ٥٠م٢/جم ويبلغ حجم الثقوب ٢٠٠-٤٠٠ أنجستروم وتفصل عليها الملوثات متوسطة القطبية .

بوراسيل (D) :تبلغ مساحة مسطحها ٢٥م٢/جم ويبلغ حجم الثقوب ٤٠٠-٨٠٠ أنجستروم وتفصل عليها الملوثات متوسطة القطبية .

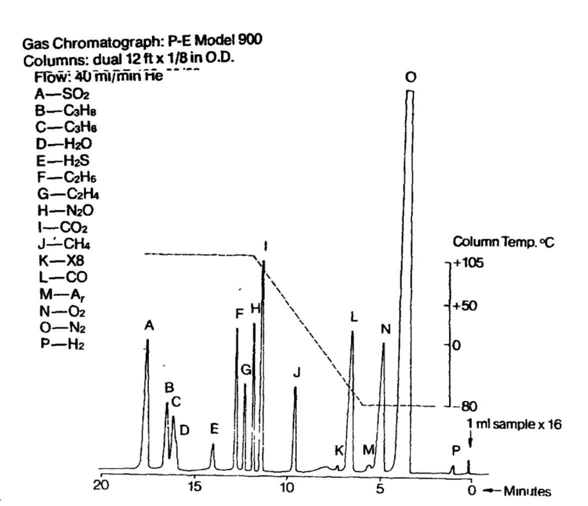
بوراسيل (E) : : تبلغ مساحة مسطحها ٤م٢/جم ويبلغ حجم الثقوب ٨٠٠-١٥٠٠ أنجستروم وتفصل عليها الملوثات مرتفعة القطبية .

٦-دي أكتيجيل (Deactigel) :

مادة مدعمة متخصصة لتحليل ثاني أكسيد الكربون وثاني أكسيد الكبريت كبريتيد الهيدروجين وثاني كبريتيد الكربون في العينات البيئية حيث لا تظهر تزييل حر(Free tails) معها وعليه فلها جاذبيتها الخاصة مع المشتغلين في مجال التلوث البيئي خاصة الهواء حيث تصل مستوي حساسيتها في إدمصاص الغازات الكبريتية إلي الجزء في المليون .

كما تسمح بإستعادة ثاني أكسيد الكبريت وكبريتيد الهيدروجين حتي الجزء في البليون .

تمتاز أيضا بسهولة تعبئتها وحشو الأعمدة بها حيث تتطلب فقط غسيلها بمحلول حامضي كما أنه لا يطرأ عليها تغير مع الوقت كما أنها لا تحتاج إلي طور سائل لتغطيتها .



<u>شكل رقم (٧-٢٦)</u> : أمثلة للفصل علي دىأكتيجيل

٧-التيناكس (Tenax-GC) :

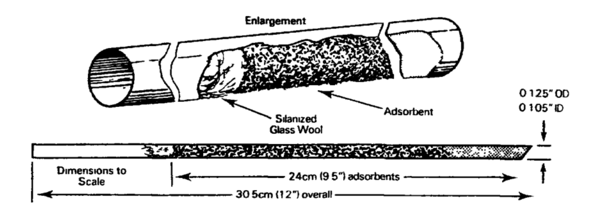
بوليمر مدعم متقب يستخدم في حشو الأعمدة حيث تعتمد طبيعة تركيبه علي ٢،٦-داي فينيل-بارا-فينيلين أكسيد (2,6-diphenyl-p-phenelyene oxide) .

وهي مادة إدمصاص جيدة للمواد والملوثات البيئية المتطايرة في الهواء الجوي خاصة الملوثات ذات الأوزان الجزيئية حتي عدة مئات مما يجعلها نموذجية في التحليل الدقيق لمتبقيات السموم والملوثات البيئية في العينات البيولوجية وفي الهواء كما أنها عالية الكفاءة كمادة إدمصاص للمصائد فتمص مثل هذه الملوثات خلال أربعة ساعات علي درجة حرارة الغرفة ، شكل رقم (٧-٢٧) . كما أنها لا تؤثر علي المواد التي تتصيدها في نفس

الوقت فإنه يمكن تخزينها معها لأسبوعين ونقلها لمكان التحليل أيضا يمكـــن إستعادة نتائجها مرة ثانية (Reproducibility) .

ويلائم فصل المركبات عالية القطبية وذات درجة الغليان العالية كـــالبولي إيثيلينات والفينولات الأحادية والثنائية والأمينات والألدهيـــدات والكيتونـــات والجليكول والديول .

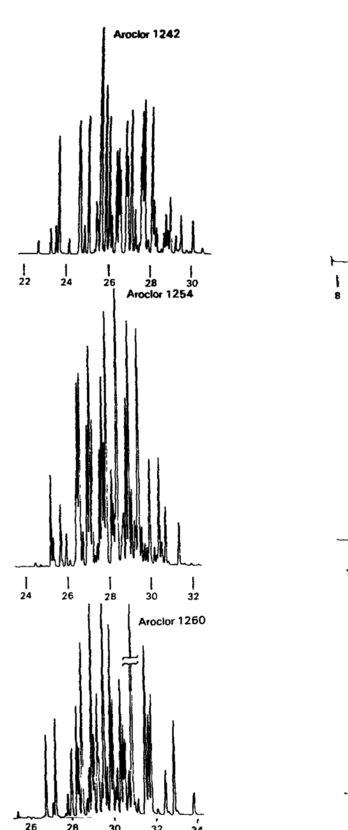
وتمتاز بفترة إستبقاء قصيرة مع خط أساس ثابت وتعمـــل علـــي درجـــة حرارة منخفضة وإعطاء فصل عالي الكفاءة . كما أنها تسمح بمـــور الغـــاز الحامل بمعدل ١٠ ملل/د/درجة حرارة الغرفة وتدمر علي درجات الحـــرارة العالية ٣٠٠ م .



شكل رقم (٧-٢٧) : مصيدة تيناكس للملوثات البيئية

٨-مادة (SPB) :

وهي مادة متفاوتة من حيث حجم الثقـــوب(SPB-5, SPB-35 & SPB-608) وتستخدم (SPB-5 & SPB-35) مع كاشفات النيتروجين والفوسفور لتقييم مبيـــدات الحشائش بكفاءة تبلغ حتي مستوي ٥٠٠ بيكوجرام كما تستخدم فـــي فصـــل مخاليط ومشابهات البيفينولات عديدة الكلـــور ،شـــكل رقـــم (٧-٢٨) و قـــد تستخدم مخلوطة مع السيليكا المنصهرة (SPB-608) خاصة مع كاشف الإلتقاط الإليكـــتروني (ECD) وبكفـــاءة حتـــى ٢٠٠ بيكوجـــرام مـــع المركبـــات الهيدروكربونية العضوية الكلورونية ، شكل رقم (٧-٢٨) .

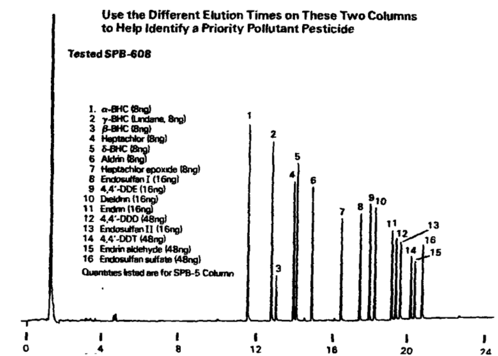


SPB-5 fused silica capillary column, 30m x 0.32mm ID, 0.25μm film, Col Temp 30°C for 4 min., then to 300°C at 10°C/min and hold 10 min., Linear Velocity 25cm/sec., He, set at 150°C, Det ECD, Range 10 ¹¹, Attn 1 x 128, Sample 0.1μl isooctane containing 0.1ng Aroclor standard, splitless in-

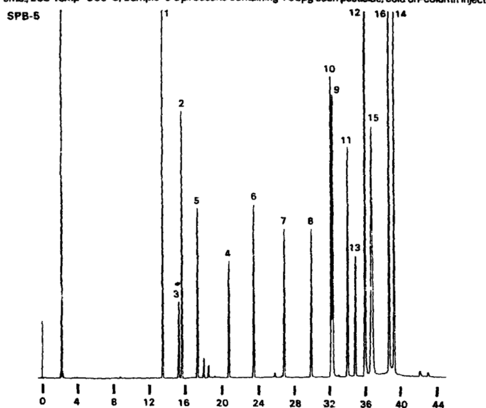


SPB-5 wide bore capillary column, 60m x 0.75mm ID, 1.0μm film, Col. Temp 180°C for 2 min., then to 300°C at 8°C/min and hold 10 min., Linear Velocity 20cm/sec., He, set at 180°C, Flow Rate: 5cc/min., flow controlled, Det ECD, Range 10 ¹¹, Attn 1 x 512, Sample 0.1μl isooctane containing 0.1μg Aroclor 1242 or 0.5μl isooctane containing 0.5μg Aroclor 1254 or 1260, on-column injection

شكل رقم(٧-٢٧):أمثلة للسموم والملوثات المفصولة علي(SPB-5 & SPB-35)



SPB-608 fused silica capillary column, 30m x 0 25mm ID, 0 25μm film, Col Temp · 4 min. at 150°C, then to 290°C at 8°C/min and hold 5 min., Linear Velocity 25cm/sec, He, set at 290°C, Det . ECD, Sens.. Range 10^{-11}, Atten · x32, Inj Temp amb., ECD Temp 300°C, Sample· 0 5μl decane containing 100pg each pesticide, cold on-column injection



SPB-5 fused silica capillary column, 30m x 0.25mm ID, 0 25μm film, Col Temp 150° to 230°C at 2°C/min and hold 5 min., Linear Velocity: 20cm/sec, He, set at 220°C, Det . ECD, Range 10^{-12}, Atten · x256, Sample· 0.8μl of Cat No 4-8858 (Pesticide Standard, on-column quantities listed above), Split Ratio 100·1.

شكل رقم(٧-٢٨):أمثلة للسموم والملوثات المفصولة علي (SPB-608)

المواد المطورة (Modifiers) :

عند تحليل المركبات النشطة (Extremely active) يستحسن تغطيـة المـادة المدعمة ببعض الكيماويات المطورة (Modifiers) قبل إضافة الطور السـائل (Liquid phase) فعلي سبيل المثال عند فصل الأمينات يسـتخدم هيدروكسـيد البوتاسيوم كمطور أما عند فصل الأحماض الدهنية يستخدم ١٠ % حمـض تترا–فيثاليك وهناك أمثلة أخري مثل حمض الفوسفوريك .

الطور السائل (Liquid phase) :

يعد إختيار الطور السائل عامل هام له دوره في عمليـة الفصـل الجيـد لمكونات مخلوط العينة . وأغلب الأطوار الثابتة بلمرات (Polymers) خاملـة كيميائيا لا يحدث بينها وبين المكونات المفصولة تفاعل كيميـائي أو طبيعـي وتستخدم بمفردها أو بعد خلطها ببعض وذلك بغرض تنوع درجـة القطبيـة وتعدد عمليات الفصل بها .

وتأخذ هذه المشتقات السيليكونية الرمز الكيميائي التالي :

$$CH_3-\underset{CH_3}{\overset{CH_3}{|}}{Si}-O-\left[\underset{R2}{\overset{R1}{|}}{Si}-O\right]_N-\underset{CH_3}{\overset{CH_3}{|}}{Si}-CH_3$$

وكلما زادت قيمة رقم عدد الوحدات (n) كلمـا زاد الـوزن الجزيئـي للطور السائل فتزداد بذلك درجة لزوجتـه حيـث غالبـا تـتراوح الأوزان الجزيئية للأطوار السائلة المستخدمة في تحليل العينات البيولوجية في حـدود ٥٠٠٠ .

وتستخدم مركبات السيليكون في تحميل مواد الإدمصاص المدعمة بحيـث تكون تكون الأطوار الثابتة والمتساوية في ثابت مال رينولدز (Mc-Reynolds) تتشابه في مقدرتها علي الفصل فمعرفة هذه القيم لهذه الثوابت تساعد كثـيراً في إختيار الأنسب للعمود بالنسبة لمكونات مخلوط العينة المراد فصلها .

وتعد مركبات السيليكون أنسب وأشيع الأطوار السائلة إسـتخداماً وذلـك نتيجة تمتعها بالصفات التالية :

- مقدرتها العالية علي فصل المكونات العالية القطبية .
- تتمتع بدرجة ثبات نسبي عالية خاصة عند إستخدام درجات الحـــرارة العالية حيث يتم أذابتها في خلات الإيثيل أو ترسبها بلإيثانول ثم تجفـــف علي درجة حرارة ١٠٠ م أو تعــــامل بالتســخين مــع مــرور تيــار النيتروجين علي درجة حرارة مرتفعة .
- تجعل الوسط الثابت لايتفاعل مع المكونات بالعينـــة المــراد فصلـــها وتعريفها وتقديرها .
- تضفي درجات ثبات أعلي علي النظام المغلفـــة لـــه علـــي درجــات الحرارة العالية حيث أنها أطوار سائلة ذات ضغط بخاري منخفضودرجــة لزوجة منخفضة .
- وجودها مع النظام الثابت يؤدي إلي إزالة المواد الدخيلة ذات الـــوزن الجزيئي المنخفض .

ويذاب الطور السائل في المذيب المناسب لكل منها وتتم تغطية حبيبــات المادة المدعمة المدمصة بــه (Adsorbent support material) حيــث تســتخدم الأطوار السائلة الغير قطبية في فصل متبقيات السموم والملوثات البيئية الغـير قطبية والعكس صحيح وقد تخلط بعض الأطوار السائلة الغــير قطبيــة مــع الأطوار السائلة القطبية وذلك بغرض إعطاء طور سائل متفاوت في درجـــة قطبيته .
وتوصي منظمة الأغذية والعقاقير الأمريكية (USA FDA) الأطوار التاليـــة في فصل السموم والملوثات البيئية من الأغذية :

- 10 % DC-200
- 5 % QF-1 .

علي درجة حرارة ٢٠٠ °م وبمعدل سريان ١٢٠ ملل / دقيقة حيث يكـون نزيف الأعمدة منخفض خاصة عند التحميل المنخفـــض ومعـدل الســريان البطيء مما يعطي إستجابة عالية للكاشف وفصل جيد في النهاية .
وبصفة عامة يجب وأن يتمتع الطور الثابت بالشروط التالية :

- يعمل كمذيب لمكونات مخلوط العينة كل مكون بدرجة إذابة مختلفـــة وبالتالي يكون له معاملات توزيع متفاوتة .
- لايتأثر بدرجة الحرارة .

- له درجة تطاير منخفضة علي درجة الحرارة الموصي بها في الفصل وهو ما يؤدي بدوره إلي زيادة فرصة إستخدام العمود لمدة أطول في نفس الوقت يقلل النزيف (Bleeding) لإرتباطها كيميائيا مع الدعامة الصلبة (مادة الحشو) عند درجات الحرارة العالية .
- إعطاء أقل مستوي من إشارة الخلفية (Back ground signal) .
- لا يتفاعل كيماويا مع مكونات مخلوط العينة المراد فصلها .
- قابليته للذوبان في المذيبات الطيارة مما يسهل عملية تغطية لمادة الحشو : الدعامة الصلبة (Packing materials : Solid support).
- يتحدد إستخدامها وإختيارها لدرجة كبيرة علي درجة الحرارة المستخدمة أي علي درجة ثباته .
- غالبا ما تتراوح نسبة الطور السائل إلي مادة الحشو بين ١-٣ % وترتفع إلي ١٠ % في الأغراض التحضيرية حيث تزال كمية من الطور السائل أثناء عملية التهيئة (Conditioning) للعمود وهو ما يجعل الكمية النهائية منه علي المادة الدعامية غير معروفة بالضبط حيث قد تصل نسبة الإزالة من عمود SE-30 إلي ٥٠ % من السيليكون المضاف عند درجة ٣٣٠-٣٥٠ °م .
- الأطوار السائلة القطبية عبارة عن إسترات عديدة مشتقة من الكحولات مثل إيثيلين جليكول والبيوتان ثنائي الهيدروكسيل أو أحماض ثنائية القاعدة مثل حمض السكسينيك وحمض الجلوتاريك والايديبيك والفيثاليك .
- أما الأعمدة المعاملة بالطور السائل SE-30فهي أقل إدمساء وتتحمل درجة حرارة عالية حتي ٣٥٠ °م عن العمود DG-200(٢٥٠ °م) حيث تتطاير مكونات العمود من الطور السائل بإرتفاع درجة الحرارة عن ذلك وتنساب من العمود وتترسب علي الكاشف مما يؤدي إلي زيادة الوقت النسبي البيني (Interval time) بين الصيانة والتنظيف .
- ويلاحظ أن العمودان (OV-210 & QF-1) لهما نفس نظام الفصل (Same elution pattern) للعمودين (DG-200 & SE-30) والفرق الواضح بينهما هو إنخفاض الجزيئات ذات الوزن الجزيئي الجزيئات ذات الوزن الجزيئي المنخفض في المخلوط وعموما فأي أطوار لها تركيب متماثل يكون لها صفات فصل متماثلة :

$$(CH_3)_2 - \left[\begin{matrix} CH_3 & & CH_3 \\ Si & - O - & Si - \\ CH_3 & & CH_3 \end{matrix} \right] O\ Si(CH_2)3$$

ميثيل سيليكون

$$(CH_3)_2 - SiO \left[\begin{matrix} O & & CH_3 \\ Si & - O - & Si - \\ CH_3 & & O \end{matrix} \right] O\ Si(CH_2)3$$

فينيل سيليكون

$$(CH_3)_2 - SiO \left[\begin{matrix} C\ Fl_3 & & \\ (CH_2)_2 & & CH_3 \\ Si & - O - & Si - \\ CH_3 & & (Ch_2)_2 \\ & & CFl_3 \end{matrix} \right] O\ Si(CH_2)3$$

تراي فلوروبروبيل سيليكون
(QF & OV-210)

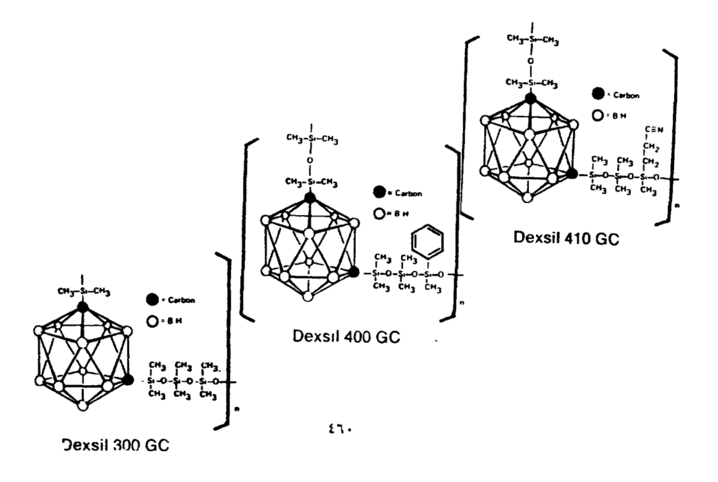
فعلي سبيل المثال الشمع الكربوني (Carbowax 20 M) وتركيبه بولي إيثيلين جليكول ووزنه الجزيئي ١٥٠٠٠-٢٠٠٠٠ يتم تخلقه بوصل جزيئين من بولي أكسي إيثيلين جليكول مع داي إيبوكسيد ، في حين (Carbowax 20 MTPA) فيتفاعل أكثر مع حمض تيريفثاليك (Terephthalic) أما المع الكربوني (Carbowax FFAD) فهو عبارة عن الشمع الكربوني (Carbowax 20M) ومعامل بحمض ٢-نيترو تيريفثاليك (2-nitro terephthalic) ولهذا لايستخدم في تحليل الألدهيدات والإيبوكسيدات حيث يمتصها بقوة بينما يمتص الـتراي أزينات جزئيا . الرابط بولي إيثر يزيد التأخير للمركبات المحتوية علي مجاميع هيدروكسيل أو أمين وتكون مرتبة الإزاحة للأمينات مثل أو تقريبا مثل درجة غليان الأمينات الثلاثية والثانوية ثم الأولية ، شكل رقم (٧-٢٩) .

ويلاحظ أن كميات قليلة من الأكسيجين علي درجات الحرارة العالية تكون طاقة كافية لإنتاج الأسيتالدهيد بتكثيف مع آثار من الأمينات مما يؤدي لجعلها تمتص لا عكسيا علي العمود ولهذا تستخدم (O-Scrubber) والمصيدة

الوليمرات علي درجات الحـــرارة العاليـــة . والأحمـــاض القويـــة خاصـــة الهالوجينية وأحماض لويس تلامس إنهيار بولي جليكـــولات فتتحـــول إلـــي كربونيلات إلا أن المعاملة المسبقة بواسطة ١-٢% هيدروكســـيد بوتاســـيوم تعطي عمود أكثر ثباتا وتسمي بالمواد المطورة كما سبق (Modifiers).

أما الطور السائل ديكسيل (Dexil) فهو بوليمر من جزيئات كبـــيرة خطيـــة (Linear macromolecules polymer) مشارك مـــع وحـــدات مـــن الكـــاربوران (Carboran) والسيلوكسان (Siloxane) حيث يتكون ميتا كاربوران من عشـــر ذرات كربون وذرتين كربون مرتبطتين معا في ثلاثة أبعـــاد مكونـــة كتلـــة تركيبية (Cluster like structure) تلعب دورها (ميتـــا كـــاربوزان) كبالوعـــة للطاقة (Energy sink) مثبتة لحدودها ضد القوي التـــي تـــؤدي لإضطرابـــها خاصة الحرارة العالية .والمتاح من الديكسيل ثلاثة أنواع غالبا ما تستخدم مـــع الأعمدة الشعرية والمستخدمة في فصل الـــهيدروكربونات العضويـــة حتـــى أربعون ذرة كربون .

والجدول التالي رقم (٧-٦) يوضح نماذج لبعـــض الأطـــوار الســـائلة والمحملة علي مواد مدعمة بالأعمدة واستخداماتها وبدائلها .



جدول رقم (٧-٦) : نماذج لبعض الأطوار السائلة المحملة على مواد مدعمة بالأعمدة واستخداماتها وبدائلها :

الطور السائل المحمل على المادة المدعمة	نوع الطور	استخدامه	أدنى وأقصى درجة حرارة	البديل
3% carbowax 20m/100-120 supelcoport	بولي جليكول	عام	٦٠-٢٢٥	
5% carbowax 20m/100-120 supelcoport	بولي جليكول	عام	٦٠-٢٢٥	
10% carbowax 20m/80-100 supelcoport	بولي جليكول	عام	٦٠-٢٢٥	
10% carbowax 20m/100-120 supelcoport	بولي جليكول	عام	٦٠-٢٢٥	
15% carbowax 20m/80-100 supelcoport	بولي جليكول	عام	٦٠-٢٢٥	
20% carbowax 20m/80-100 supelcoport	بولي جليكول	عام	٦٠-٢٢٥	
5% carbowax 20m/40-60 chromosorb	بولي جليكول	عام	٦٠-١٧٥	
10% carbowax 20m/80-100 chromosorbWAW	بولي جليكول	عام	٦٠-٢٢٥	
10% carbowax KOH/80-100 chromosorbWAW	بولي جليكول	أمينات	٦٠-٢٢٥	
10% carbowax TPA/80-100 chromosorbWAW	أستر	أحماض	٦٠-٢٢٥	
3% OV-1 / 80-100 Supelcoport	ميثيل سيليكون	عام	١٠٠-٣٥٠	Sp-2100
3% OV-1 / 100-120 Supelcoport	ميثيل سيليكون	عام	١٠٠-٣٥٠	Sp-2100
3% OV-1 / 80-100 Supelcoport	ميثيل سيليكون	عام	صفر-٣٥٠	Sp-2100
10% OV-1 / 80-100 Supelcoport	ميثيل سيليكون	عام	صفر-٣٥٠	Sp-2100
3% OV-7 / 100-120 Supelcoport	م سيليكون ٨٠ ف سيليكون ٢٠	عام	صفر-٣٥٠	
3% OV-11 / 100-120 Supelcoport	م سيليكون ٦٥ ف سيليكون ٣٥	TMS Amino	صفر-٣٥٠ صفر-٣٥٠	
3% OV-17 / 80-100 Supelcoport	٥٠ : ٥٠	عام	صفر-٣٥٠	Sp-2250
3% OV-17 / 100-120 Supelcoport	٥٠ : ٥٠	عام	صفر-٣٥٠	Sp-2250
3% OV-17 / 80-100 chromosorbWHP	٥٠ : ٥٠	عام	صفر-٣٥٠	Sp-2250
3% OV-17 /100-120 chromosorbWHP	٥٠ : ٥٠	عام	صفر-٣٥٠	Sp-2250
3% OV-25 / 100-120 Supelcoport	٢٥ : ٧٥	عام	صفر-٣٥٠	
3% OV-210 / 80-100 Supelcoport	تراي كلوروبروبيل ميثيل سيلكون	عام	صفر-٢٧٥	Sp-2401
3% OV-210 / 80-100 chromosorbWHP	تراي كلوروبروبيل ميثيل سيلكون	عام	صفر-٢٧٥	Sp-2401
3% OV-225 / 80-100 Supelcoport	سيانوبروبيل فينيل	عام	صفر-٢٦٥	
3% OV-225 / 100-120 Supelcoport	سيانوبروبيل فينيل	عام	صفر-٢٦٥	
3%OV-275(GP)/100-120chromosorbt PAW-DMCS	سيانوبروبيل فينيل	احماض دهنية	صفر-٢٥٠	
3% SE 30 / 80-100 Supelcoport	ميثيل سيليكون	عام	٥٠ - ٣٠٠	SP-2100
3% SE 30 / 100-120 Supelcoport	ميثيل سيليكون	عام	٥٠ - ٣٠٠	SP-2100
5% SE 30 / 80-100 Supelcoport	ميثيل سيليكون	عام	٥٠ - ٣٠٠	SP-2100
10% SE 30 / 80-100 Supelcoport	ميثيل سيليكون	عام	٥٠ - ٣٠٠	
3% SE 30 /80-100 chromosorbWHP	ميثيل سيليكون	عام	٥٠ - ٣٠٠	
10% DC 200 / 100-120 Supelcoport	ميثيل سيليكون	للمبيدات	صفر-٣٠٠	SP-2100
5% DEGS (GP) / 100-120 Supelcoport	بولي استر	احماض دهنية	٢٠ - ٢٠٠	110%DEGS-SP
10% DEGS (GP) / 80-100 Supelcoport	بولي استر	أسترات . .	٢٠ - ٢٠٠	
10% DEGS (GP) / 80-100 chromosorbWAW	بولي استر	أسترات . .	٢٠ - ٢٠٠	110%DEGS-SP
15% DEGS (GP) / 80-100 chromosorbWAW	بولي استر	أسترات . .	٢٠ - ٢٠٠	110%DEGS-SP

تابع الجدول رقم (   )

البديل	أدنى وأقصى درجة حرارة	استخداماته	نوع الطور	الطور السائل المحمل على المادة المدعمة
	٥٠ – ٤٥٠ ٥٠ – ٤٥٠ ٥٠ – ٤٥٠	عام عام عام	كاربوران سيليكون كاربوران سيليكون كاربوران سيليكون	1% DEXSIL300 / 100-120 Supelcoport 3% DEXSIL300 / 100-120 Supelcoport 3% DEXSIL300 / 80-100 chromosorbWAW
	٥٠–٢٠٠	استرات أحماض دهنية	بولي أستر (ن لوريل – ن–فالين)	10%sp-216-ps(gp)/100-120 supelcoport
	٦٠–١٤٠	أحماض أمينية (O,L)	فالين–ت–بيوتيل أميد	5%sp-300- /100-120 supelcoport
	٥٠–٢٥٠ ٥٠–٢٥٠ ٥٠–٢٥٠ ٥٠–٢٥٠ ٥٠–٢٥٠ ٥٠–٢٥٠	استرويدات كلوروالكان عام عام أحماض دهنية كلوروالكان	Carbowax & Substituted Terephtholic	1%sp-1000 /100-120 supelcoport 3%sp-1000 /100-120 supelcoport 5%sp-1000 /100-120 supelcoport 10%sp-1000 /80-100 supelcoport 10%sp-1000 /100-120 chromosorbWAW 3%sp-1000 /60-80 chromosorbWAW
	٢٥–١٧٥ ٢٥–١٧٥	زيلينات زيلينات	استربنتوفيت استربنتوفيت	5%sp1200(gp) 5%bentone/100-120 supelcoport 5%sp1200(gp) 1.75%bentone/100-120 supelcoport
	٢٥–٢٠٠	C2-5VFA	استر/حمض	10%sp1200(gp) 1%H_2PO_4/80-100 chromosorbWAW
	٧٠–١٨٠	فينولات	بولي استر	1%sp1240 Da / 100-120 supelcoport
	صفر–١١٠	هيدروكربونات (ك١ – ك٦)	م سيانو سيليكون	23%sp1700 / 80-100 chromosorb PAW
	صفر–٣٥٠ صفر–٣٥٠ صفر–٢٧٥ صفر–٣٥٠ صفر–٣٥٠ صفر–٣٥٠ صفر–٣٥٠ صفر–٣٥٠	عام استيرويدات أمينات أستيرويدات –مبيدات عام هيدروكربونات فينولات عام	ميثيل سيليكون ميثيل سيليكون ميثيل سيليكون ميثيل سيليكون ميثيل سيليكون ميثيل سيليكون ميثيل سيليكون ميثيل سيليكون	1%sp-2100 /100-120 supelcoport 3%sp-1000 /80-100 supelcoport 3%sp-1000 (DB) /100-120 supelcoport 3%sp-1000 /100-120 supelcoport 5%sp-1000 /100-120 supelcoport 10%sp-1000 /80-100 supelcoport 10%sp-1000 (GB) /100-120 supelcoport 20%sp-1000 /80-100 supelcoport
	صفر–٢٧٥ صفر–٣٥٠ صفر–٣٥٠ صفر–٣٥٠ صفر–٣٥٠	عام عام–أحماض مرارية(ME_2) مواد قاعدية ومتعادلة مشتقات الفينول عام	م.سيليكون: ٥٠ ف.سيليكون: ٥٠	1%sp-2250 /100-120 supelcoport 3%sp-2100 /80-100 supelcoport 3%sp-2100 (DB) /100-120 supelcoport 5%sp-2100 /80-100 supelcoport 10%sp-2100 /100-120 supelcoport
	صفر–٢٧٥ صفر–٢٧٥ صفر–٢٧٥ صفر–٢٧٥	عام كربوهيدرات استرات أحماض دهنية عام	تراي فلوروبروبيل سيليكون	3%sp-2300 /100-120 supelcoport 3%sp-2300 (GB) /100-120 supelcoport 10%sp-2300 /80-100 supelcoport 10%sp-2300 /100-120 supelcoport

تابع الجدول رقم (   )

	صفر-٢٧٥	استرات أحماض دهنية	ترا ي	10%sp2300 (GB) / 100-120 chromosorb WAW
	صفر-٢٧٥	كربوهيدرات	فلوروبروبيل	3%sp-2300 (GB) /100-120 supelcoport
	صفر-٢٧٥	عام	سيليكون	10%sp-2300 /100-120 supelcoport
	صفر-٢٧٥	عام		10%sp2300 / 100-120 chromosorb WAW
	صفر-٢٧٥	امينات	تراى فلوروبروبيل	3%sp-2401 (DB) /100-120 supelcoport
	صفر-٢٧٥	استيرويدات	سيليكون	3%sp-2401 /100-120 supelcoport
	صفر-٢٧٥	أمينات		5%sp-2401 (DB) /100-120 supelcoport
	صفر-٢٧٥	مبيدات		5%sp-2401 /100-120 supelcoport
	صفر-٢٧٥	خلات Aldit		10%sp-2401 /100-120 supelcoport
	صفر-١٧٥	مذيبات	تراى فلوروبروبيل	10%sp-2401(GP) /0.1% carbowax /100-120 supelcoport
	صفر-٢٥٠	مبيدات	سيلكونات مختلطة	1..5%SP-2250 /1..95% SP-2401 /100-120 supelcoport
	٢٧٥-٢٥	Repeseed FAME	Repeseed FAME	3%SP-2310 / 21% SP2300 /100-120 chromosorb WAW
	٢٥٠-١٠٠	مبيدات		4%SE-30 / 6% SP-2401 /100-120 supelcoport
	صفر-١٧٥	مذيبات		20%SP-2100 GB / 0 1% SP-401 /100-120 supelcoport
	٢٢٥-٧٠	ريوت ليمون		5%SP-2100 GB / 0.1% SP-401 /100-120 supelcoport

ثوابت ماك رينولد واختيار الأطوار الثابتة (Mc Reynold,s constants) :

يعتمد اختيار الطور الثابت (Stationary phase) والمستخدم في التحليـــل الكروماتوجرافي علي التركيب الكيميائي لمكونات العينة موضع الفصل :

- فالأطوار الثابتة غير القطبية (Non-Polar Stationary phase) : تســتخدم عموما لفصل المكونات الغير قطبية بالعينة مع الأخذ في الإعتبار وبشـكل أساسي نقطة الغليان وحث التفاعلات ثنائية القطب (Dipole induced) .
- أما الأطوار الثابتة القطبية (Polar Stationary phase) : فتستخدم عمومـا في فصل المكونات القطبية بالعينة حيث تتميز هـــذه الأطــوار بوجــود أقطاب ثنائية مشحونة علاوة علـــي التداخــلات مــن خــلال الرابطــة الهيدروجينية .

ولقد أستخدمت أرقام الحبس لكوفات (Kovat,s retention indices) لمقارنــة وقت الحبس (التأخير) لبعض المكونات أو المواد علي وسط ثـــابت حيــث يعرف برقم الحبس أو التأخير لكوفات بالنسبة لألكان عادي (طبيعـــي) هــو حاصل ضرب ١٠٠ في عدد ذرات الكربون في جزيء الألكان ، جدول رقم (٧-٧) حيث وجد علاقة خطية بين لوغاريتم وقت الحبس المطلـــق وعــدد ذرات الكربون في سلسلة متدرجة لنوعية معينة كيميائية من المركبات حيــث أقترح نظام دليل الحبس (Retention index system : RIS) لسلسلة متدرجة مــن حيث عدد ذرات الكربون بها مثل :

ميثان : عدد ذرات الكربون (١) X ١٠٠ = ١٠٠
إيثان : عدد ذرات الكربون (٢) X ١٠٠ = ٢٠٠
بروبان : عدد ذرات الكربون (٣) X ١٠٠ = ٣٠٠
بيوتان : عدد ذرات الكربون (٤) X ١٠٠ = ٤٠٠
بنتان : عدد ذرات الكربون (٥) X ١٠٠ = ٥٠٠
هكسان : عدد ذرات الكربون (٦) X ١٠٠ = ٦٠٠

جدول رقم (٧-٧) : أرقام التأخير لكوفات والإنحـــراف المعيــاري (δ) لمركبات قياسية للبيفينولات المكلورة :

Isomer	I* I (180°C)	σ	ΔI/10°C	II** I (190°C)	σ	ΔI/10°C	III*** I (200°C)	σ
3-	1567.1	0.1	4.3	1571.4	0.4	4.3	1575.7	0.6
2,6-	1610.1	0.1	8.4	1618.6	0.5	9.3	1627.9	0.6
2,3-	1685.3	0.5	9.5	1694.8	0.5	10.0	1704.9	0.5
2,2',5-	1758.2	0.3	9.0	1767.2	0.0	9.5	1776.6	0.4
4,4'-	1762.9	0.3	9.4	1772.3	0.2	9.5	1781.8	0.2
2,2',6,6'	1811.8	0.1	10.5	1822.3	0.1	10.8	1833.1	0.3
2,3',5-	1825.1	0.1	9.3	1834.5	0.1	9.6	1844.1	0.2
2,4',5-	1839.2	0.1	9.7	1848.8	0.1	9.2	1858.0	0.4
2,4,4'-	1841.8	0.2	10.0	1851.8	0.2	9.3	1861.0	0.4
2',3,4-	1858.1	0.2	10.0	1868.2	0.1	10.7	1878.9	0.5
2,2',5,5'-	1903.7	0.1	9.6	1913.3	0.1	9.8	1923.1	0.2
2,2',4,5'-	1911.8	0.1	9.8	1921.6	0.1	10.1	1931.7	0.1
2,2',4,4'-	1917.2	0.2	10.1	1927.3	0.1	10.3	1937.6	0.2
2,2',3,5'-	1937.8	0.3	10.3	1948.1	0.1	10.7	1958.8	0.5
2,2',3,3'-	1970.2	0.1	11.2	1981.4	0.1	11.6	1993.0	0.0
2,3',4',5-	2009.9	0.0	10.7	2020.6	0.1	10.9	2031.6	0.2
3,3',4,4'-	2121.6	0.2	12.6	2134.2	0.2	12.9	2147.1	0.4
2,2',3,4,5'-	2105.5	0.1	11.5	2117.0	0.2	11.8	2128.8	0.4

فعند حقن مخلوط لسلسلة معروفة من المركبات الكيميائية والمتدرجـــة في عدد ذرات الكربون بجزيئاتها ثم تمثيل ذلك بيانيا في مقابل وقت الحبـــس وجدت علاقة خطية تم مقارنتها بعد ذلك بالنتائج الملاحظة مع المرجع .

كذلك تم تقدير الإختلافات في أرقام الحبس للسلســـلة المتجانســة علـــي أعمدة قطبية وغير قطبية والتي سماها (الاختلافات) بعد ذلـــك بقيـــم معـــدل التغير (ΔI-values) واستخدامها في أغراض التعريف (Identification) عندمـــا لا توجد مواد قياسية حيث يتم فيها تعين وقت الحبس النسبي فلقد وجد أن قيـــم أرقام التأخير وقيم معدل التغير (ΔI) لها تغير خطي صغير مع الحرارة عـــدا

الجزيئات القطبية ويمكن استخدامها بثقة أكبر في التعريف ، جـــدول رقـم (٧-٨) .

جدول رقم (٧-٨) : أرقام التأخير لكوفات والإنحراف المعياري (δ) والزيادة في درجات الحرارة للبيفينولات عديدة الكلور (PCB,s) والمركبات الأساسية في مركب آروكلور (١٢٤٢):

Peak no.	Cl	I*	σ	ΔI/10°	Structure found
6	2	1625.8	0.3	8.8	2,2'
7	2	1671.4	0.4	5.5	2,4
8	2	1690.0	0.3	8.3	2,3'
9	2	1700.9	0.2	8.6	2,4'
10	3	1735.8	0.2	9.2	2,2',6
11	3	1776.2	0.1	9.4	2,2',5
12	2	1781.8	0.1	9.5	4,4' + 2,2',4
13	--	1795.6	0.3	9.3	--
14	3	1810.0	0.1	9.8	2,2',3
17	3	1843.6	0.2	9.0	2,3',5
18	3	1848.8	0.2	9.4	2,3',4
19	3	1858.1	0.1	9.3	2,4',5
20	3	1861.1	0.2	9.3	2,4,4'
21	3 + 4	1878.1	0.1	9.7	2',3,4
22	3	1890.2	0.4	10.8	--
23	4	1899.7	0.1	10.8	--
24	4	1912.5	0.2	10.8	--
25	4	1922.7	0.2	9.4	2,2',5,5'
26	4	1931.3	0.1	9.9	2,2',4,5'
27	4	1937.1	0.1	10.0	2,2',4,4'
28	4	1939.1	0.1	10.1	--
29	4	1958.1	0.1	10.3	2,2',3,5'
30	4	1965.2	0.2	10.9	2,2',3,4'
31	4	1980.1	0.1	10.8	--
33	4	1992.7	0.1	11.3	2,2',3,3'
35	--	2009.9	0.5	12.4	--
37	4	2025.7	0.1	10.8	--
38	4	2031.3	0.1	10.6	2,3',4',5
39	5	2037.4	0.1	11.0	--
40	5	2048.8	0.4	11.1	--
41	4	2065.3	0.1	11.9	--
42	5	2074.0	0.1	11.6	--
44	5	2084.6	0.2	10.6	--
49	5	2128.2	0.5	11.1	2,2',3,4,5'
51	4	2146.6	0.5	11.5	3,3',4,4'

ولقد قدرت أرقام التأخير لكوفات بالجدولين السابقين في أعمدة زجاجيـــة بطول ٥٠ م ومغطاه بالطور (OV-101) ، أما لرقم التأخير لأيـــة جزيئـات أخري فعبر عنه بالمعادلة التالية :

I_K = $_Z$ ١٠٠ +١٠٠ [(لو وقت التأخير للمركب الغير معلوم) - (لـو وقـت التـأخير للمركب الهيدروكربوني ذو عدد الذرات Z)] / (لو وقت التأخير للمركب الهيدروكربوني ذو عدد الذرات Z +١)- (لو وقت التأخير للمركب الهيدروكربوني غير المعلوم)

أي $_Z$ ١٠٠ +١٠٠[لوt_{Rx} - لو t_{Rz}] / [لو t_{Rz+1} - لوR_z]

وبناء علي ما سبق عرف رينولد ذلك بطريقة أخري وسماها ثوابت رينولـد (Mc Reynold,s constants) وهي قيم الاختلاف في أرقام التأخير فـي صـورة وحدات (ΔI) بين القيم القياسية لمدي كبير من الأطوار الثابتة المستخدمة فـي التحليل الكروماتوجرافي الغازي وطور ثابت قياسي غير قطبـي Standard) (non- polar phase كالاسكوالان (Squalane) حيث استخدم هذه القيم في ترتيب ومقارنة مقدرة الفصل (Separation ability) لهذه الأطوار ، جدول رقـم (٧-٨).

ويبلغ عدد ثوابت ماك رينولد عشرة ثوابت وهي :

١) ΔI_1 للبنزين = X`=
(R_t للبنزين بطور ما)- (R_t للبنزين علي طور الإسكوالان)

٢) ΔI_2 للبيوتانول = Y`=
(R_t للبيوتانول بطور ما)- (R_t للبيوتانول علي طور الإسكوالان)

٣) ΔI_3 للبنتانون = Z`=
(R_t للبنتانون بطور ما)- (R_t للبنتانون علي طور الإسكوالان)

٤) ΔI_4 للنيتروبروبان =U`=
(R_t للنيتروبروبان بطور ما)- (R_t للنيتروبروبان علي طور الإسكوالان)

٥) ΔI_5 للبيريدين = 'S =
(R_t للبيريدين بطور ما)– (R_t للبيريدين علي طور الإسكوالان)

٦) ΔI_6 ٢ –ميثيل –٢–بنتانول = 'H =
(٢R_t –ميثيل–٢–بنتانول بطور ما)–(٢R_t –ميثيل–٢–بنتانول علي طور الإسكوالان)

٧) ΔI_7 ٢ –أوكتاين ='R=
(R_t ٢ –أوكتاين بطور ما)– (R_t ٢ –أوكتاين علي طور الإسكوالان)

٨) إيجاد مجموع القيم السابقة السبعة لكل طور مستخدم (Σ_{1-7}) ولكن قد يقتصر علي إيجاد مجموع القيم الخمسة لكل طور مستخدم (Σ_{1-5})

٩) الثابت (b) : ويمثل ميل المنحني المتحصل عليه من توقيع قيم وقت الحبس (R_t) للديكان (Decane) والدوديكان (Dodecane) في مقابل القيمة المقابلة لها من (I) لكوفات وهي ١٠٠٠ و ١٢٠٠ .

١٠) الثابت (r) وهو النسبة بين وقت الحبس الصافي (Net Retention time) لي ألكان يحتوي علي ثماني ذرات ويتم حسابها من الجذر التربيعي لنسبة أوقات الحبس (R_t) للديكان والدوديكان .

فالطور الثابت الذي له أعلي قيمة للثابت (b) و الثابت (r) يعطي أعلي وأكفأ فصل خاصة لسلسلة متماثلة (Homologus series) من المركبات .

وعليه يتم ترتيب الأطوار السائلة المختبرة تبعا لقيم ثوابت ماك رينولد المقاسة سابقا وتبعا للزيادة في درجة قطبيتها المعينة كمتوسط للقيم الخمسة الأولي (Σ_1^5) . وعليه فلطالما استخدمت مجموعة مركبات واسعة الإختلاف كمجسات (Probes) فإن دليل الإختيارية لأنواع واسعة الإختلاف من المركبات تكون متاحة كما بالجدول رقم (٧–٩) ولمزيد من التوضيح لكيفية استخدام ثوابت رينولد يستخدم المثالين التاليين :

جدول رقم (٧-٩) : ثوابت ماكرينولدز لاختيار الأطوار الثابتة

stationeryphase	VALUES							SUM
Tradename Desscription	1	2	3	4	5	6	7	From 1 To 5
Squalane	0	0	0	0	0	0	0	0
Paraffin Oil.	9	5	2	6	11	2	2	33
APOLANE-87	21	10	3	12	25	0	0	71
Apiezon M	31	22	15	30	40	12	10	138
Apiezon L	32	22	15	32	42	13	11	143
SF 96 (GE - SF - 96)	12	53	42	61	37	31	21	205
Apiezon L	38	36	27	49	57	23	15	207
Apiezon N	38	40	28	52	58	25	15	216
SE 30 (GE - SE - 30)	15	53	44	64	41	31	22	217
OV - 1 (Di methyl -gum)	16	55	44	65	42	32	23	222
OV- 73	16	55	44	65	42	32	23	222
M and B Silicone Oil	14	57	46	67	43	33	22	227
DC 200 (12 500 cstks)	16	57	45	66	43	33	23	227
OV-101	17	57	45	67	43	33	23	229
DC-410	18	57	47	68	44	34	24	234
Versilube F- 50	19	57	48	69	47	36	23	240
DC 11	17	86	48	69	56	36	23	276
SE 52 (GE -SE - 52)	32	72	65	98	67	44	36	334
SE 54 (EE - SE - 54)	33	72	66	99	67	46	36	337
OV - 3	44	86	81	124	88	55	35	423
Dexsil 300	47	80	103	148	96	55	46	474
Fluorolube HG 1200	51	68	114	144	118	68	53	495
Kel F Wax	55	67	114	143	116	73	57	495
Apiezon H	59	86	81	151	129	46	23	506
OV- 7	69	113	111	171	128	77	66	592
DC 550	74	116	117	178	135	81	72	620
Di(2-ethylexyl) Sebacate	72	168	108	180	125	132	49	653

تابع جدول رقم (٧-٩) :

stationeryphase Tradename Description	VALUES 1	2	3	4	5	6	7	SUM From 1 To 5
Diisodecyl Adipate	71	171	113	185	128	134	52	668
Octyl Decyl Adipate	79	179	119	193	134	141	57	704
Dilauryl Phthalate	79	158	120	192	158	120	52	707
Bis(2-ethylhexyl)Tetra - chlorophthalate	112	150	123	168	181	110		734
Diisodecyl Phthalate	84	173	137	218	155	133	59	767
Dinonyl Phthalate	83	183	147	231	159	141	65	803
DC 710	107	149	153	228	190	107	98	827
Dioctyl Phthalate	92	186	150	236	167	143	66	831
POLY -1 110	115	194	122	204	202	152	55	837
Hallcomid M - 18	79	268	130	222	146	202	48	845
OV - 17	119	158	162	243	202	112	105	884
UCON LB-550-X	118	271	158	243	206	177	91	996
Span 80	97	266	170	216	268	207	66	1017
castorwax	108	265	175	229	246	202	73	1023
POLY - A 103	115	331	149	263	214	221	62	1072
OV-22	160	188	191	283	253	133	132	1075
Polypropylene Glycol	128	294	173	264	226	196	98	1085
Trimer Acid	94	271	163	182	378	234	57	1088
POLY-A 101A	115	357	151	262	214	233	64	1099
UCON LB-1715	132	297	180	275	235	201	100	1119
Acety Tributyl Citrate	135	268	202	314	233	214	102	1152
Didecyl Phthalate	136	255	213	320	235	201	101	1159
OV-25	178	204	208	305	280	144	147	1175
Polyphenyl Ether OS-124	176	227	224	306	283	177	135	1216
Tributyl Citrate	135	286	213	324	262	226	102	1220

تابع جدول رقم (٧-٩) :

stationeryphase Tradename Desscription	VALUES 1	2	3	4	5	6	7	SUM From 1 To 5
Tricesyl Phosphate	176	321	250	374	299	242	131	1420
OF -1	144	233	355	463	305	203	53	1500
OV - 210	146	238	358	468	310	206	56	1520
Sucrose Acetate isobutyrate	172	330	251	378	295	264	128	1426
OV - 215	149	240	363	478	315	208	56	1545
Igepal CO -630	192	381	253	382	344	277	136	1552
DC LSX-3-0295	152	241	366	479	319	208	55	1557
UCON 50-HB-2000	202	394	253	392	341	277	147	1582
Emulphor ON-870	202	395	251	395	344	282	140	1587
Triton X-100	203	399	268	402	362	290	145	1634
UCON 50-HB-5100	214	418	278	421	375	301	155	1706
S ponara OS-10	99	569	320	344	388	466	61	1720
Tween 80	227	430	283	438	396	310		1774
XE 60	204	381	340	493	367	289	120	1785
OV 225	228	369	338	492	386	282	150	1813
Neopentyl Glycol Adipate (HI - EFF - 3AP)	232	421	311	461	424	335	156	1849
UCON 75-H-90000	255	452	299	470	406	321	180	1882
Lgepal CO 880	259	461	311	482	426	334	180	1939
Triton X - 305	262	467	314	488	430	336	183	1961
HI - EFF - 8BP	271	444	330	498	463	346	175	2006
Quadrol	214	571	357	472	489	431	142	2103
Neopentyl Glycol Succinate (HI-EFF-3BP)	272	469	366	539	474	371	184	2120
Igepal CO 990	298	508	345	540	475	366	222	2166
EGSP - Z	308	474	399	548	549	373	224	2278
Carbowax 20M	322	536	368	572	510	387	221	2308

مثال رقم (١) :

إذا كان المطلوب عمود ذو طور ثابت يؤخر ظهور مركب كيتوني بقـــوة أكبر (أي يحتفظ بها بدرجة أكبر) عن مركب كحولي فـــإن هــذا الطــور المحتاج إليه يكون له قيم عالية نسبيا من قيم(ΔI) للبنتانون مقارنة بقيم (ΔI) لكحول البيوتانول وهو ما نجده متوفراص في العمـــود (OV-210) [٣٥٨–٢٣٨] أي بفارق أكثر من ١٠٠ : [٣٥٨–٢٣٨ = ١٢٠] أي أن :

ΔI ٢–بنتانون / ΔI ١–بيوتانول = قيمة كبيرة

والعكس صحيح إذا كان المراد تأخير المركب الكحولي

مثال رقم (٢) :

أما إذا كان المراد هو تأخير مركب آروماتي بقوة أكبو عن مثيله الأليفـاتي في الوزن الجزيئي فإنه يتم البحث هنا في الجدول عن قيم ΔI للبنزين العاليـة فنجدها في الطور: ن,ن–بس (سيانو إيثيل فورمالدهيد وتساوي : ٦٩٠

أو في الطور ١.٢.٣–تريس (سيانوإيثوكسي بروبان وتساوي :٥٩٣

وقيم ΔI للبنزين في هذين الطورين تشير لتـــأخر ظــهور الملــوث الآروماتي كثيرا عن مثيله الأليفاتي والمماثل له في الوزن الجزيئي تقريبا .

مثال رقم (٣) :

عند استخدام الطور الثابت رقم (٨) بالجدول وهو (SE-30) والذي يمثـــل مجموع قيم الإختلاف (وحدات ΔI الخمسة له (Σ_1^5) = ٢١٧ لم يظهر فاعلية في الفصل كذلك بالنظر للأطوار بالدول السابق نجد أنن لا نتوقع فصل جيـد ممكن في الأطوار من الطور رقم ١–١٥ حيث أن الفرق بين أعلـــي قيمـة للمجموع (Σ_1^5) هي ٢٤٠ والطور السابق موضع البحث ٢١٧ فيكون الفــرق هنا : ٢٤٠–٢١٧ = ٢٣ << ١٠٠

لذا فمن الأصوب والأصح اختيار أحدى الأطوار إبتداء من الطور رقـــم ٢٠ وحتى ٦٠ ذات قيم المجموع (Σ_1^5) ٤٧٤ و ١٤٢٦ :

وبالرجوع للطور ذو المجمـــوع :١٤٢٦ = ١٤٢٦–٢١٧ = ١٢٠٩ >>> ١٠٠ ولهذا يعطي فصل جيد .

ويجب الأخذ في الاعتبار عدم التوقع لفصل جيد ومؤكد باستخدام أعمـــدة جاهزة وبأوساط ثابتة الفرق في قيم (Σ_1^5) لها > ٢٠ كذلك عدم التوقع بفصل جيد ومؤكد باستخدام أعمدة معبأة وبأوساط ثابتة الفرق في قيـم (Σ_1^5) لـــها >١٠٠ .

تقييم الأعمدة (Column evaluation) :

يوصف العمود بأنه ذو كفاءة عالية عند حقن مستخلصات تحتوي علي عـــدة مواد (مركبات) تندمج بتركيزات منخفضة ويعطي فصل جيد حـــاد (Sharp) بين المنحنيات ومنحنيات المواد المتداخلة (Extraneous):

١ـ فاعلية العمود (Column efficiency) :

وهي مقدرة (كفاءة) العمود علي إعطاء نتائج فصل جيدة من حيث تبــاعد قمم المنحنيات فتكون كاملة الانفصال وغير متداخلة (Overlapping) ولا يوجــد بها أكتاف (Holders) خاصة مع جزيئات المركبات المتقاربـــة فـــي تركيبــها الكيميائي .

وتتأثر فاعلية العمود بالعوامل التالية :

١-١-حجم جزيئات المادة المدعمة (Support) فكلما صغرت حجم الحبيبـــات كلما زادت فاعلية العمود .

١-٢-انتظام وتماثل التغطية أو التغليف(Uniform coating) للطـــور الســائل) علي حبيبات المادة المدعمة أي . (Liquid stationary phase

١-٣-الدقة المتناهية في عملية ملئ العمود (Packing) وكذلك تهيئة العمــود (column conditioning).

١-٤-القطر الداخلي للعمود (Internal Diameter : I.D.) فكلما قل القطر الداخلـي للعمود كلما زادت فاعلية العمود وكفاءته في الفصل .

١-٥ـ طول العمود (Column length) فكلما زاد طـــول العمــود كلمـــا زادت كفاءته فطول العمود يعبر عنه بعدد الصفائح النظرية الكلية (Total number & theoretical plates : N/L) ففاعلية العمود يمكن التعبير عنها بأنها قـــدرة العمـــود

علي إعطاء فصل جيد لقمم المنحنيات والتي تكون في نفس الوقت حادة وهذا يتأتي من احتواء العمود علي ٣٠٠٠ صفيحة نظرية للعمود الذي يبلغ طوله ٦ قدم أي أن عدد الصفائح النظرية الكلية / وحدة طول بالعمود لها علاقة بوقت الحبس المطلق أو وقت الاستبقاء المطلق (Absolute Retention time) و عرض قاعدة المنحني وعليه يكون :

فاعلية العمود (C. Efficiency) =

عدد الصفائح النظرية =N= $(4X/Y)^2$ = $16\,(X/Y)^2$

وعليه يقدر فاعلية العمود بحساب عدد الصفائح النظرية كما يلي :

وقت الاستبقاء المطلق RX_1 القياس(مم) /6.35 عند معدل حركة ¼بوصة/دقيقة
RX_2 القياس(مم) /8.38عند معدل حركة 1/3بوصة/دقيقة
RX_3 القياس(مم) /12.6عند معدل حركة 1/2بوصة/دقيقة
RX_4 القياس(مم)/12.76عند معدل حركة 1/3بوصة/دقيقة
RX_5 القياس(مم) /25.40عند معدل حركة 1 بوصة/دقيقة
$X/Y = RR_{ty}$

فإذا كانت أقل من ٢٧٠٠ فإن ذلك يدل علي وجود خطأ في استعمال أو إعداد أو تهيئة العمود

وبحساب وقت الحبس النسبي المركب YY وتقارن برقم الحبس النسبي الجدولية للمركب. ثم حساب وقت الحبس المطلق المركب YY وتقارن برقم الحبس المطلق الجدولية للمركب وعلي نفس العمود ومواصفات التشغيل فإذا كانت أكبر بدقيقتين فيدل ذلك علي زيادة في درجة حرارة الفرن أو زيادة في معدل انسياب الغاز الخامل فلكل عمود مثالي نظام إزاحة (Elution pattern) خاص و مميز له مثل البصمة (Finger print).

أما كفاءة الفصل (Resolution : R) فهي النسبة بين التغير في وقت الحبس لمنحنيات حادة ومنفصلة عن بعضها إلى متوسط قاعدة المنحنى :

كفاءة الفصل (Resolution :R) =

Δ

$$\Delta R_t / W = [(2R_{t2} - R_{t1}) / (W_1 + W_2)\} / 2 = 2 / (W_2 + W_1) / 23$$

١-٦-المليء الجيد للمادة المدعمة والمعبئة للعمود حيث لا توجــــد منــاطق هشة كفراغات أو تكون منضغطة .

١-٧-معدل سريان الغاز (Flow rate) حيث يؤثر معدل السريان علي انتشــار مكونات العينة وعلي عملية انتقال الكتلة(Mass transfer) و بالتالي وقت الحبس المطلق (R_t) فكلما زاد معدل السريان كلما قل وقت الاستبقاء (الحبــس) وأدي ذلك لتغير استجابة الكاشف (Detector) حيث من معادلة فان ديميتر:

=(H) (Van deemeter equation : H)

ثابت الانتشار الدائري (A) +العامل المساعد في اتساع قاعدة المنحني للانتشار الطولي (B/U)+ عامل راجع لانتقال الكتلة (CU)

⇓

(لكي نقلل عامل الانتشار الدائري نصغر قطر الحبيبات لذا ففي الأعمدة الشعرية = صفر)

لذا فعملية برمجة معدل السريان مع درجات حـــرارة منخفضـــة يقلــل النزيف الإدماء (Bleeding) فتزيد الخطية .

١-٨-مدى الجهد المستقطب داخـــــل الكاشــف خاصـــة كاشــف الالتقـــاط الإليكتروني (E.C.D) ففي مدى معين من الجهد يعطى استجابة خطية وأقـــل من ذلك يعطي منحنى متسع القاعدة (مفلطح)

٢ - حساسية العمود (Column sensitivity) :

و يقصد بحساسية العمود درجة تأثيره علي استجابة الكاشف لتركيزات قليلـــة من المتبقيات في حدود جزء في البليون (Part Per Billion:ppb.10^{-9}gm) و تتــأثر حساسية العمود بالعوامل التالية :

٢-١-تزداد حساسية الكاشف Detector Sensitivity بانخفاض سرعة التدفق لحد معين رغم أن ذلك يزيد من وقت الحبس (وقت الاستيفاء) و العكس صحيح.
٢-٢-كمية ونوعية و درجة تحميل (Loading) و تجانس الحشـــو (Packing Homogenity) و درجة الحرارة المثلى والتي يعطي عندها أكبر حساسية .
٢-٣-تزداد حساسية الكاشف بمدي معين من الجهد المستقطب الداخل للكاشف ويعطي استجابة خطية.

٣ - نمط الإزاحة Elution Pattern :

لكل عمود معين وتبعا لنوع الوسط الثابت له [أي نوع المـــادة المدعمـــة (Support) والطور السائل المغلف لحبيباتها (Liquid Phase) والمعبأ به العمـــود] نمط إزاحة أو نمط فصل معين للمركبات المفصولة من خلاله أي ترتيـــب أو تعاقب (Sequence) لخروج مكونات مخلوط مفصول وذلك تبعـــا لقيـــم وقـــت الحبس المطلق(R_t) أو قيم وقت الحبس النسبي(RR_t) .
ويتأثر نمط الإزاحة باختلاف درجة قطبية كل مـــن مـــادة الادمصـــاص بالعمود والطور السائل حيث تكون باقي العوامل الأخـــرى والمؤثـــرة علـــي الفصل ثابتة (درجة حرارة العمود-درجة حرارة مكان الحقن-معدل ســـريان الغاز-نوع الكاشف).

٤ - وقت الاستبقاء أو وقت الحبس (Retention time : R t):

يعرف وقت الحبس المطلق (Absolute Retention time : R_t) بأنـــه الوقـــت اللازم مروره ابتداء من وقت حقن العينة (وقـــت خـــروج منحنـــى المذيـــب الخاص بالعينة) وحتى خروج مركز منحنى العينة المزاح من العمود.

أما وقت الحبس النسبي(Relative Retention time :RR_t) وهو قيمة نسبية تعبر عن نسبة وقت الحبس المطلق لمركب بالنسبة لوقت الحبس المطلق لمركـــب قياسي (Reference Standard) وقيمته تساوى :

وقت الحبس النسبي (RR_t) =
وقت الحبس المطلق لمركب/وقت الحبس المطلق المرجع .

- ففي حالة السموم الهيدروكربونية العضوية الكلورونية يعد الألدريـــن (Andrin) هو المرجع القياسي مع اســتخدام كاشــف الالتقــاط(المســك) الإليكتروني (Electron Capture Detector : ECD) .
- أما في حالة السموم الفوسفورية العضوية فيكــون المرجــع القياســي الخاص بها هو مركب إيثيل باراثيون (Ethyl-Parathion) ويكون الكاشــف المتخصص المستعمل هو كاشف اللهب الضوئـــي (Flame Photometric Detector :F.P.D) أو كاشف اللهب المتأين (Flame Ionization Detector :F.I.D)

وتستخدم قيمة وقت الحبس النسبي عند فصل عدد كبير من المركبـــات فيمكن أخذ قيمة الحبس المطلق (R_t) لأول مركب يظـــهر كمرجـــع وجعلـــه مساويا للوحدة ثم ينسب إليه باقي أوقات الحبس المطلقة للمركبات الأخـــرى ويفضل استخدام قيمة وقت الحبس المطلق حيث هناك عامل مؤثر علي قيمـــة وقت الحبس النسبي (RR_t) وهو درجة حرارة العمود فقـــط والعكـــس لوقـــت الحبس المطلق .

ويتأثر وقت الحبس بالعوامل التالية :

٤-١-الكمية المستخدمة من المادة المدعمة فالأعمدة التي بها تحميل متوســط ٦٠% أو أقل تؤدي للحصول علي الحد الأعلى للحساســـية مـــع الاحتفـــاظ بالزمن في حـــدود ٢٠ - ١٦ ثانيـــة ، أما الأعمـــدة ذات التحميل العـــالي (Over Loading) فتعامل في درجات حرارة منخفضة مع زيادة سرعة ســـريان الغاز.

٤-٢-درجة حرارة العمود فكلما زادت درجة حرارة العمود كلما قل وقت الحبس و العكس صحيح .

٤-٣-الوزن الجزيئي و قطبية المادة المالئة ، فكلما زاد وزنها الجزيئى كلما زاد وقت الحبس حيث تتأثر القطبية كثيرا بالوزن الجزيئي للمركب.

٤-٤-حجم حبيبات المادة المدعمة فكلما زادت دقة و نعومة الحبيبات كلمـــا زاد وقت الحبس.

٤-٥-معدل سريان الغاز الحامل (Gas Carrier Rate Flow) فزيادة معدل ســـريان الغاز عن حد معين يؤدى لخفض حساسية الكاشف .

٤-٦-طول العمود وقطره فكلما زاد طول العمود كلما زاد وقت الفصـــل و بالتالي أعطي نتائج أكثر دقة ، كذلك كلما قل نصف القطر كلمـــا زاد وقـــت الحبس المطلق و أعطى نتائج جيدة و العكس صحيح .
٤-٧-نوعية المركب المفصول خاصة إذا ما عرف مسبقا قبل الفصل.

٥ - ثبات العمود الحراري (Column Thermal stability):

وهنا يكون من المرغوب فيه استخدام أعمدة ذات ثبات حراري عـــالي و بالتالي تكون مقاومة للإدماء (Bleeding) وهنا يتم اختبار مادة الحشو (المـــادة المدعمة) والطور السائل (Liquid Phase) الأكثر حراريا ، فعلى سبيل المثـــال يتحمل درجة حرارة تصل إلى ٣٥٠ °م بينما الطـــور الثـــابت DC - 200 لا يتحمل درجة حرارة أعلى من ٢٠٠°م .

٦-مقاومة مكونات العمود للانهيار

(Resistance to column component decomposition):

يؤدي استخدام عمود كروماتوجرافي فـــي فصـــل وتعريـــف وتقديـــر المركبات بدون تجهيز أو تهيئة للعمود (Conditioning) أو صيانة مـــن وقـــت لأخر (Maintenance) إلى انهيار المركبات المفصولة عليـــة (Decomposition)

وأول أعراض الانهيار هو تحول المكون المفصول لمشابه آخر (كتحـــول مركب P-P-DDT إلى P-P-DDD ثم إلى P-P-DDE وبمعدل انهيار يصل إلـــى ٣٠% خاصة إذا ما كان العمود معبأ بمادة (OV-17/QF-1) .

وقد يكون السبب في ذلك هو النهاية الأمامية (الطرف الأمامي) للعمـــود بطول نصف بوصة حيث تترسب بداخلها بعض المواد الدخيلة علـــى كتلـــة الصوف الزجاجي بأول العمود أو على المادة المالئة بأول بوصة في العمـــود من المادة المدعمة وهنا يجب التخلص منها وإعادة حشوها مرة أخرى بنفـــس مادة الحشو .

كذلك يفيد معاملة الأعمدة المعبأة حديثـــا (Prepared column) بمخلـــوط السيللة وذلك بغرض إزالة عدد كبير من مناطق الادمصاص النشطة (Active

(Sites والتي تسبب انهيار بعض المركبات ، فإجراء عمليـــة السـيللة لــهذه الأعمدة تمنع إعطاء نتائج سيئة في الفصل (Dramatic Results) .

٧-التحميل الزائد للحقن (Injection Loading) :

يؤدي الحقن المتكرر لحدوث انهيار للمركب المحقون وظهور ممثـــلات (Metabolites) له وهذا ما يلاحظ في الكروماتوجرامات الأربعة التالية والتـــي تم فصل مخلوط مكون من خمس مركبات فيها على عمود (2%OV-1/3Q-F-1)

فعند حقن مخلوط لخمسة مركبات بعمود معبأ حديثا وحديـــث التوصيـــل بالكاشف أعطى الكروماتجرام رقم I تم حقن نفس المخلوط بنفـــس العمـــود السابق ولكن بعد حقن ١٨ حقنة متتالية من مستخلص عينة دهنية تم فصلـــها بواسطة ١٥% داى إيثيل إيثر في البتروليم إيثر وعمود الفلوروســـيل حيـــث كانت تحتوي الحقنة الواحدة على ٢٥ ملليجرام دهن وبعد ٣٠ دقيقة من أخر حقنة تم توصيل الكاشـــف ثـــم حقـــن المخلـــوط موضـــع البحـــث فظـــهر الكروماتوجرام الثاني II حيث انخفاض في قمم المنحنيـــات (Decreased pick tops) وظهور تزبيل (Tailing) وعندما تم تغيير مكان الحقن (Injection Insert) كذلك (Vykor glass) بمكان الحقن ثم أعيد الاتزان لمدة ٣٠ دقيقـــة ثـــم حقـــن المخلوط مرة أخرى فأعطى الكروماتوجرام الثالث III والذي أظهر اســـتعادة جزئية لكنها ليست على ما يرام (Dramatic Recovery) وبإجراء عملية تهيئـــة بالحرق (Heat Curing) لمدة يوم بليلة Over night مع التشغيل العـــادي (مـــن حيث باقي الظروف) ثم الحقن بنفس المخلوط وتحت نفس الظروف الأولـــى ظهر الكروماتوجرام الرابع IV والذي يشير لحدوث اســـتعادة شـــبة كاملـــة (Regeneration Semi Complete Recovery) . وباســـتعراض الكروماتوجرامـــات الأربعة فنجد أن العمود أصبح ملوثا أو مخـــرب (Damaged) ســـواء نتيجـــة الحقن الروتيني المتكرر أو حقن عينات ليست على درجة عالية من التنقيـــة (Clean up) يمكن إصلاحه من خلال تغيير شمعة الحقن (Injection Insert) وكتلة الصوف الزجاجي المادة المالئة للعمود بطول البوصة الأولى .

وعليه فالتحميل (Loading) يؤدي لانخفاض تدريجي في الاستجابة لكـــثرة الحقن والذي يرجع لاستمرارية تراكم شوائب على مادة الحشو فتكون إحـــدى مظاهر التحميل ظهور تزبيل (Tailing) أو لتراكم الشوائب فتـــؤدي لتكســـير المركبات وعليه فتنظيف العمود من خلال تشغيله ليوم وليلة أو إجراء السيللة

أو تغيير وحدة Vykor Glass بأخرى جديدة نظيفة بمكان الحقن يؤدي لاستعادة مفاجئة في الحساسية وبالتالي الأداء العالي .

٤-ضابط حرارة الفرن (Oven temperature controller) :

يزود الفرن المثبت فيه العمود بضابط للحرارة والذي يكون غالبا من النوع (Isothermal Controller) حيث يتحكم في درجة الحرارة بالدرجة الواحدة سواء يدويا أو أوتوماتيكيا بمبرمج للحرارة (Temperature Programmer) تبعا للمتغيرات في الظروف المحيطة فتذبذب (Fluctuation) درجة حرارة الفرن بشدة تؤدي لحدوث دوائر بخط الأساس (Cycles In Baseline) مما يؤدي عادة لقراءات خاطئة وترجع هذه الذبذبات لعدم ثبات قوة الفولت (Voltage) والذي تغيير فيه أو في درجة حرارة الفرن يؤدي لتغير معدل الفصل ووقت الاستبقاء وتتسع أو تضيق قاعدة المنحنيات . فلكل عمود ولكل طريقة تحليل ولكل مركب درجة حرارة خاصة يفصل عليها والتي تختلف من مركب لآخر(فالمركبات المفصولة ذات درجة الغليان المرتفعة تحتاج لوقت إزاحة أطول ودرجة حرارة أعلى أما المركبات المنخفضة في درجة غليانها فتزاح بسرعة العمود ولكن يحدث بها تداخل بالمنحنيات (Over Lopping) مع زيادة إدماء العمود أسيا مع رفع درجة الحرارة) كما أن استجابة الكاشف وطول وقت الاستبقاء يعتمد كثيرا على درجة حرارة الفرن الموضوع بداخله العمود فيزداد الاستبقاء علي درجات حرارة المنخفضة للفرن والعكس كذلك نجد أن المنحنى يكون حاد (جيد الفصل) عندما تستخدم درجات حرارة مرتفعة في نفس الوقت قد تؤدي لظاهرة الإدماء للعمود (Bleeding) والتي يمكن التغلب عليها ببرمجة السريان (Flow rate programmer) على درجات حرارة منخفضة فيقل الإدماء مع زيادة الخطية (Linearity) مع معدل السريان .

٥-الكاشفات (Detectors) :

يقوم الكاشف باستشعار أو رصد (detection) لجزيئـــات المركـــب (أو المركبات) المفصولة والخارجة من العمود بطرق تختلف من حيث الفكـــرة المبني عليها طريقة عملها : أي الحصول علي استجابة تتناسب طرديـــا مـــع تركيز المركب المار خلاله وهذه الاستجابة تكون في صورة إشارات (signal) تكبر وتميز فتعرف ثم تقدر كميا .

حيث يتم بتجميع أبخرة جزيئات كل مكـــون مـــن مكونـــات المخلـــوط المفصول من العمود كل علي حدة بوحـــدة التجميـــع التجزيئـــي (Fraction collection) بمجرد خروجها من فتحة الخروج بالعمود (Out let port) بعد ذلك تبدأ جزيئات كل مكون مفصول في المـــرور للكاشـــف الـــذي يستشـــعرها (يرصدها) بمقياس فرق الجهد (Potentiometer) والذي يختلف نوعه وتركيبـــه تبعا للتركيب الكيميائي للجزيئات المفصولة .

ويتم تقيم أداء الكاشف عن طريق :

- معايير الحساسية (Sensitivity parameters) :
- الضوضاء (Noise)
- الخطية (Linearity): حيث استجابة خطية مع التركيز (Linear response to concentration) حيث تكون كثافة الاستجابة ذات علاقـــة خطيـــة مـــع تركيز المكون المقاس
- سرعة الاستجابة لأي تغير في تركيز جزيئات المركب سواء نتيجـــة التغير في تركيز العينة المحقونة أو تغيير نتيجة تســـرب فـــي مجـــري سريان الغاز .
- التخصصية (Selectivity) في فصل مكونات ذات تركيـــب كيميـــائي معين
- الثبات : يجب وأن يظل ثابتا علي مدى واسع من درجات الحـــرارة وألا يتأثر بتغير ضغط وسرعة سريان الغاز .

وفيما يلي أستعراض للكاشفات الشائعة الاستخدام في تعريف وتقدير متبقيات السموم والملوثات البيئية :

٥-١ كاشف الالتقاط الإلكتروني (Electron Capture Detector : ECD) :

تعد كاشفات الالتقاط (الأسر) الإليكتروني من الكاشفات غير المتخصصة المتسع نطاق انتشارها واستخدامها في عمليات التحليل الدقيق لدقتها العالية ولها أنواع تختلف تبعا لنوع المصدر المشع المؤين للغاز تريتيوم (H^3) نيكل (Ni^{63}) و(SC^3H^3) وسوف يتم الحديث عن أكثر كشافات الالتقاط الإليكتروني شيوعا وهي :

٥-١-١ كاشف الالتقاط (الأسر : المسك) الإليكتروني من النوع تريتيوم :
(Tritium Electron Capture Detector : H^3 ECD)

حيث يمر الغاز الحامل الخامل (inert carrier gas) وهو النيتروجين على المصدر المشع تريتيوم (H^3) حيث فترة نصف حياته تبلغ ١٢.٥سنة) فيتاين الغاز (decay type) وتخرج منه جزيئات بيتا (β-Particles) في صورة طاقة تصطدم (Strike) بجزيئات الغاز الحامل (النيتروجين) فتؤينه فتخرج منه إليكترونات تنجذب للأنود نتيجة فرق الجهد بين الأنود والكاثود فتعطي نبضات (Signals) كتيار أساسي للخلفية (Back Ground Current :BGC) والذي يزداد بزيارة إليكتروناته المفتردة ، شكل رقم (٧-٣٢) :

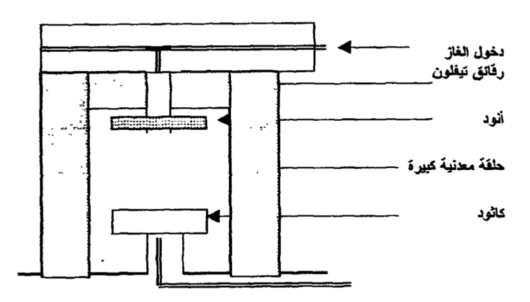
$$N_2 + \beta \rightleftharpoons N_2^+ + e^-$$

غاز حامل — جسيمات بيتا — طاقة عالية — طاقة منخفضة

وعند حقن المركبات الهيدروكربونية العضوية عالية الكهروسالبية (More electro negatively) ووصول أبخرتها الخارجة من العمود لغرفة التجميع ثم إلي الكاشف فإنها تأسر أو تمسك وتلتقط إليكترونات الغاز الحامل المؤين تبعا لدرجة تركيزها فتتكون أيونات سالبة نتيجة أسرها وتفاعلها سواء بالالتحام أو الانفصام

$$e^- + AB \rightleftharpoons AB^-$$
$$e^- + AB \rightleftharpoons A + B^-$$

ونتيجة لهذا الالتحام يحدث انخفاض ملحوظ في التيار الكهربي الـــذي يمكن استشعاره بواسطة الإليكترو ميتر(Electrometer) ، ويظهر هذا النقـــص في التيار ويترجم في صورة منحني (peak) يعلو خـــط الأســـاس وتتوقـــف مساحة المنحني علي تركيز جزيئات المركب الاسر والملتقط للالكترونيـــات الناتجة من الغاز الخامل المؤين شكل رقم (٧-٣٣) وهو ما يعتمد عليه عملية التحليل الكمي (Quantitative analysis) في حين يعبر مكان الخروج عن نوعيـة جزيئات المكون المفصول وهو مـــا يعتمـــد عليـــه التحليـــل النوعـــي (Qualitative analysis)



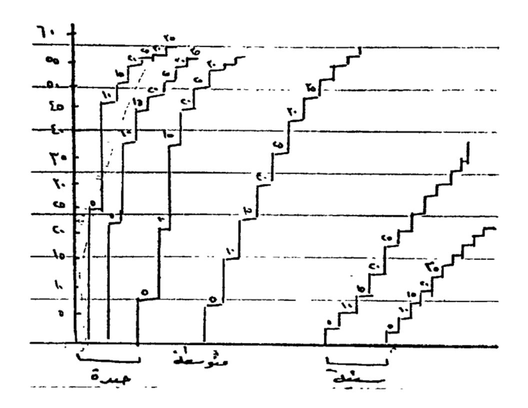
شكل رقم (٧-٣٢) :رسم تخطيطي يوضح مكونات كاشف الالتقاط الإليكتروني .

وتعد الـــهيدروكربونات العضويـــة المحتويـــة علـــي هـــالوجين (Halogen) أقـــوي فـــي التقاطـــها للإليكترونـــات وأيضـــاً نجـــد أن الهيدروكربونات العضوية الهالوجينية المحتوية علي فلور أقـــوي فـــي التقاطها وأسرها للإليكترونات عن مثيلتها المحتوية علي الكلور والتـــي أكثر بدورها عن مثيلتها المحتوية علي البروم فاليود.

الكلور (F) > الكلور (Cl) > البروم (Br) > اليود (I)

اتجاه الزيادة في أسر والتقاط الإلكترونات

اتجاه الانخفاض في نصف قطر الذرة



شكل رقم (٣٣٧): شكل تيار الخلفية (Back ground current profile)

كذلك الهيدروكربونات المحتوية علي مجـــاميع كربونيـــل (-CO-) ومجاميع داي كيتون (-Co-Co-) أو مجاميع نيـــترو (NO2) أو الروابـــط الزوجية في حين يكون الكاشف غير حساس للمركبـــات الأليفاتيـــة أو الكحولية . أي تعتمد استجابة الكاشف بدرجة كبـــيرة علـــي الـــتركيب الجزيئي للمركبات المفصولة خاصة إذا ما احتوت علي إليكـــتروفورات (Electrophores) ذات تآلف عالي (Affinity) للإليكترونـــات كالمركبـــات عديدة الهالوجين فتبلغ حساسيته 10^{-15} مول/ سم٣ عينـــــة فالكاشـــف حساس جداً للمركبات العضوية التي لها كثافة إليكترونية عالية (High Electrons affinity) مثـــل هـــاليدات الألكيـــــل (Alkyl Halides) والأحماض الكربوكسيلية والنترات والنتريلات والمركبـــات الكبريتيـــة وثنائية الكبريت).

ويتمكن الكاشف من تحسس تركيزات تصل للجزء في البليون (part per billion : ppb) أي علي 10^{-9} جرام:نانوجرام (nanogram) حيث تكون أستجابته لها خطية (Linear response) حيث تبلغ خطيته ٥٠٠.

ويستخدم الكاشف في مدي درجات حرارة تبلغ ٢٢٥°م ومستوي الضوضاء بة أقل من 1×10^{-11} أمبير و أرتفاعها عن ذلك يثبط عملية تقدير المتبقيات الضعيفة التركيز حيث يبلغ التيار الأساسي المستخدم به (Typical standing current) حوالي 13×10^{-9} أمبير.

وتتأثر حساسية الكاشف بالعوامل التالية:

- قوة الفولت.
- قوة و مصدر الإشعاع (H^3) والذي يتم تنظيف رقائق المصدر المشع (Radioactive foil) بمحلول ٥% هيدروكسيد الصوديوم في الميثانول/ ساعة ثم ترفع وتغطس في الميثانول النقي ثم تجفف وتثبت بخلية الكاشف.
- معدل انسياب الغاز الحامل فاختلافه عن المدى المرغوب فيه لطريقة التحليل يؤدي إلي لنقص في درجة الأستشعار(Detectability) والعكس صحيح. وتكون استجابة الكاشف غير خطية (not linear) مع المركبات المحتوية علي مجاميع دالة أقل كهروسالبية.
- درجة نقاوة الغاز الحامل فكلما زادت درجة نقاوة الغاز الخامل زادت حساسيته .
- حدوث تزيف بالعمود (Column Bleeding) حيث تؤدي عملية نزيف أو إدماء العمود إلي انخفاض حساسيته .
- مستوي الضوضاء والذي يجب و ألا يزيد بأي حال عن 1×10^{-8} أمبير والضوضاء قد تكون لفترة قصيرة(Short term noise) وقد تكون إليكترونية أو ناتجة عن تلوث رقائق الكاثود المشع أو تلوث خلية الكاشف (Detector.cell) .

  أو ضوضاء لفترة طويلة: (long term noise) : وتكون بسبب تلوث طبقة الكاشف أو عدم تهيئة العمود جيداً :
  (Improperly conditioned column)

- وكما سبق فزيادة مستوي الضوضاء يثبط عملية تحليـــل آثــار المركبات (Traces) وهنا يجب فحصة من حيث التلـــوث أو وجـــود تأثيرات إليكترونية فوجود مستوي ضوضاء منخفض يعني تكبـــير في القوي (High amplification)
- ثبات التيار المستخدم (Standing (true) current) : وهو عامل مهم لحساسية واختبار الكاشف فهو مقياس لمعدل التقـــاط الإليكترونـــات الناتجة من تـــأين الغـــاز الخـــامل ويلاحـــظ أن التيـــار الملاحـــظ (Observed standing current) يعبر عن مجموع تياري:

*التيار الملاحظ (Standing current) : حيث تقاس التيار الأول (S.C) كأنكسار (Deffection) علي المسجل وذلك بعكس مفتاح الفولت من on إلي off.

*والتيار المتسرب عـــبر الألكـــترود (Leakage current across electrode : LCAE) والناجم عن النزيف أو الإدماء الحاد بالعمود في خلية الكاشف .

ويمكن تقديرهما بعدة حقنات ميكروليترية من محلول كلوريني (كلوردفورم) وعند الفصل وظهور الكلوروفورم بالعمود و وصوله للكاشف فإنه يشبع تيار(S C) ويظل ثابت كما هو بالمسار. (Inter electrode current) وهنا يجب تنظيف خلية الكاشف بمذيب الأسيتون وعليه فعندما يقل تيار (SC) فإن الحساسية تقل وتقل معها الخطية وهو ما يرجع لتلوث الغاز أو لتركيز المركبات علي رقائق للمصدر المشع.

ويلاحظ زيادة مستوي تيار (SC) عند ضعف قيمته المجدولة كذلك نقص الحساسية والتي تشـــير لحـــدوث (Excessive current leakage) عبر الإليكترود (Electrode insulators) أما إذا أنخفض تيار الأساس (S.C) عن نصف هذه القيمة فيشير إلي تلوث الرقائق (foils) أو تلوث الغاز الحامل وهنـــا تظـــهر أنخفاضـــات ســـالبة (Negative dips) بجوار قمم المنحيات (Positive peaks).

٥-١-٢-كاشف الإلتقاط (الأسر) الإليكتروني من النوع النيكل:
(Nickel (Ni^{63}) Electron Capture Detector: Ni^{63} ECD)

وهنا يمر الغاز الحامل الخامل النيتروجين أو مخلوط من الآرجون (Ar) والميثيان بنسبة ١٥% والذي يعطي إستجابة خطية عالية (Linearizer) مع النيكل كمصدر مشع حيث فترة نصف صيانة تبلغ ١٢,٥ سنة .

حيث يتيح استخدام النيكل كمصدر مشع إلي إتاحة استخدام طرق تحليل ترتفع فيها درجة الحرارة بين ٢١٠ - ٣٥٠ °م ويتحملها حتى ٤٠٠ °م وبدون فقد النيكل المشع لنشاطه الإشعاعي في نفس الوقت يقل معه احتمال تلوث الكاشف علي هذا المدى الحراري المرتفع.

وبمرور الغاز علي المصدر المشع يتأين (Decay type) لجزئيات بيتا (β- particles) في صورة طاقة قليلة تصدم (Strike) بدورها بجزئيات الغاز الحامل فتؤينه وتخرج منه إليكترونات تتجذب للأنود نتيجة فرق الجهد بين الأنود والكاثود فتعطي نبضات (Signals) كتيار أساس للخلفية والذي يزداد بزيادة إليكتروناته المنفردة .

وكما سبق بالكاشف الأول تزداد حساسية مع الهيدروكربونات العضوية الهالوجينية خاصة المحتوية فيها علي الكلور (كلور > الكلور > البردم > اليود) كذلك الهيدروكربونات المحتوية علي مجاميع كربونيل وكربوكسيل ومركبات الداي كيتون والنيترو النتريلات والمركبات المحتوية علي روابط زوجية .

ويتمكين الكاشف من تحسس (أستشعار) تركيزات تصل حتى الجزء في التريليون (part per trillien : ppt) أي لمستوى البيكوجرام (Picogram) (10^{-12} جرام) حيث تكون استجابته خطية وتبلغ 10^{4} .

وتتأثر حساسية الكاشف بالفولت وقوى مصدر الإشعاع ومعدل انسياب الغاز الحامل ودرجة نقاوته أو بحدوث نزيف للعمود.

ويتم تنظيف الكاشف وهو مقفل من خلال حقنة قدرها ١٠٠ ميكروليتر ماء مقطر لعدة مرات علي درجة حرارة ٣٠٠ °م والكاشف متصل بعمود غير معبأ (غير محشو) ثم يترك الجهاز يعمل ليوم وليلة

(over night) مع مراعاة تحاشي ملامسة الأصابع (finger print) لخليـــة الكاشف (Detectorcell) .

كذلك يجب تسخين الكاشف قبل توصيله بعد ذلك بالعمود حتـى لا تتكثف علي الرقائق المشعة . كما يجب اختبار فتحه الخــروج العليـا بالكاشف والخاصة بمرور الغاز الخامل للخارج حتي لا تفسد بـالمواد المتكثفة عليه كذلك يجب تجنب انجراف الهواء (مروحة - -تكيـف) علي الكاشف فتؤدي إلي ضوضاء بخط الأساس.

ويبلغ التيار الأساسي المستخدم ١٣ × ١٠$^{-٦}$ أمبير ويعمل بالتيـار المتردد (pulsed mode) وهنا يتم تغيير تردد القوي الكهربية من خــلال تغيير تردد أو اتساع النبضة أوتوماتيكياً للحصول علــي تيـار ثـابت بالأنود كدلالة وكدالة خطية لتركيز الإليكترونات الناتجــة مــن تــأين الغاز. أو يعمل بتيار ثابت (D.C) وهنا يتم تغيير الفولــت للحصــول علي أقل تيار أساسي للخلفية . :

وتبلغ مستوي الضوضاء به ٢ × ١٠$^{-١٢}$ أمبير وأرتفاعها عن ذلـك يثبط عملية تقدير آثار المتبقيات (Traces) .

والجدول التالي يوضح صفات كل كاشف تبعـــاً لنــوع المصــدر المشع:

جدول رقم (٧-١٠): الصفات المميزة لكاشفات الإلتقاط الإليكتروني تبعاً لنوع المصدر المشعة :

الخاصية	H^3	Ni^{63}	SC^3H^3
نوع الجسيمات الناتجة (Decay type)	بيتا (B)	بيتا (B)	بيتا (B)
فترة نصف الحياة (Half life: t0.5)	١٢,٥	١٢,٥	١٢,٥
درجة الحرارة المستخدمة مع الكاشف	٢٢٥م	٢٢٥-٣٥٠ م	٤٠٠ م
تيـار الأسـاس المسـتخدم typical standing c.	١٣ × ١٠$^{-٩}$ أمبير	١٣×١٠$^{-٩}$ أمبير	١×١٠$^{-٩}$ أمبير
الخطية (Linearity)	٥٠٠	١٠٠٠	٥٠
التخصصية (sp. Factors (Hydroc)	١٠ ٧	١٠^{٧}	١٠^{٧}
مستوي الضوضاء typical noise level	<١×١٠$^{-١١}$ أمبير	<١×١٠$^{-١١}$ أمبير	<٢×١٠$^{-١٢}$ أمبير

٥-٢-كاشف اللهب الضوئي (Flame Photometric Detector : FPD):

كاشف شديد الحساسية متخصص للهيدروكربونات العضوية المحتوية علي الفوسفور أو الكبريت أو كلاهما كذلك المركبات المحتوية علي النيتروجين حيث يستشعر تركيزات صغيرة منها تصل إلي الجزء في المليون (Part per billion : ppb) أي لمستوي النانوجرام(nanogram) ١٠ $^{-٩}$ جم .

وتبني آلية فعله علي أن حرق المواد أو المركبات العضوية يؤدي إلي إنبعاث ضوئي (Optical Emission) وهو ضوء ذو طول موجي معين فإذا احتوت العينة علي الفسفور تنبعث منها أطوال موجية طولها ٥٢٦ نانوجرام أما إذا احتوت العينة علي الكبريت فينبعث منها أطوال موجية طولها ٣٩٤ نانوجرام ، شكل رقم (٧-٣٤).

حيث يتم حرق مكونات العينة المزاحة من العمود في لهب غني بالهيدروجين مع وجود الأكسيجين لإعطاء لهب مختزل (Reduced flame) فعند مرور أبخرة جزيئات المركب المزاح من العمود علي اللهب تحترق ويكون ناتج عملية الاحتراق كميات متساوية من الإليكترونات والأيونات الموجبة كما بالتفاعل التالي:

$$\text{Organic sample} + H_2 + O_2 \Longrightarrow CO_2 + H_2O + \text{ions}^+ + \text{ions}^- + e^-$$

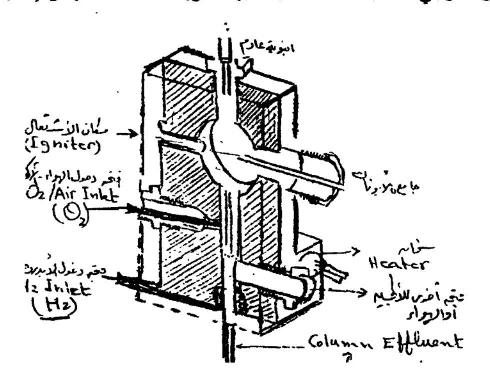
$$\Sigma\ \text{ions}^- + e^- \Longrightarrow \text{current flow}$$

حيث تكون هذه الإليكترونات في حالة إثارة أو هياج(Excitation) غير طبيعية وبخروجها عن اللهب ترجع إلي حالتها الطبيعية (Ground state) مصدرة طاقة في صورة ضوء له طول موجب معين ففي حالة :

- المركبات المحتوية علي فوسفور تتحول إلي (HPO) ويقاس الطول الموجي المنبعث منها علي ٥٢٦ نانوميتر مع استخدام مرشح (فلتر) خاص بالفوسفور.

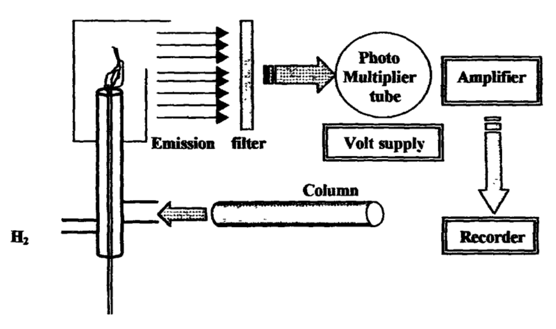
- المركبات المحتوية علي كبريت تتحول إلي (SO_2) ويقاس الطول الموجي المنبعث منها علي ٣٩٤ نانوميتر مع استخدام مرشح خاص بالكبريت.
- المركبات المحتوية علي فوسفور وكبريت تتحول إلي (HPO_2)(SO) ويقاس الطول الموجي المنبعث منها علي الطولين السابقين مع المرشحين معاً للفوسفور والكبريت.
- المركبات المحتوية علي النيتروجين تتحول إلي (NO_2) ويقاس الطول الموجي المنبعث منها علي نانوميتر.

ويتم تجميع الإشعاع الضوئي الناتج بمرآة قوية تمر علي فلتر ذو طول موجي مناسب للأشعة المنبعثة بهدف زيادة دقة الحساسية والإستجابة.



شكل رقم (٧-٣٤): رسم تخطيطي يوضح مكونات كاشف اللهب الضوئي

ثم يصطدم الإشعاع المتجمع بوحدة الأنابيب الضوئيــة (Photomultiplier tube) فتحول الطاقة الضوئية لطاقة كهربية تغزي بها وحـــدة الإليكتروميــتر فتحولها لصورة منسجمة لوحدة المسجل (Recorder) شكل رقم (٧-٣٥).



شكل رقم (٧-٣٥): رسم تخطيطي يوضح دائرة كاشف اللهب الضوئي

ومن العوامل التي تؤثر في حساسية الكشاف:

- قوة الفولت المستعمل : وتزداد حساسية الكاشف بزيادة الفولـــت فـــي تيار الخلفية (Back ground Current) ولكن ذلك يؤدي فـــي نفـس الوقــت لزيادة الضوضاء لذا يتم أختيار أعلي فولت مع أقل ضوضاء ممكنة .

- معدل انسياب الغاز فتزداد حساسية الكاشـــف عندمــا تكــون نســبة النيتروجين: الأيدروجين: الهواء هي ١ : ١ : ١٠ .

- حالة أنبوبة الضوء (Photomultiplier tube).

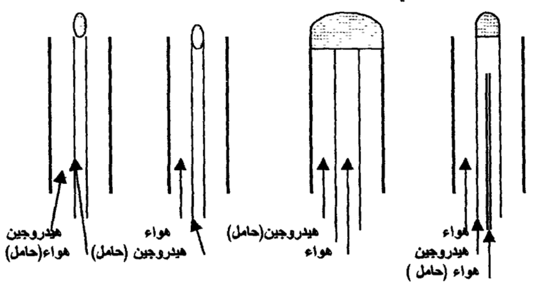
- حالة الكاشف .

- ويبلغ حساسية ٨ × ١٠ ^-١٣^ جم/ سم٣ عينة بها كبريت.
١ × ١٠ ^-١١^ جم / سم٣ عينة بها فوسفور.

- وإستجابة الكاشف خطية حتي ١٠ ^٣^

وما هو جدير بالذكر أن هذا الكاشف متخصص لذا يحد من استعمال تعرض العنصر الذي له نفس الطول الموجب المطلوب وكذا حدود الأطوال الموجبة للمرشح حيث يزود بمرشح ٥٢٦ للفوسفور و ٣٩٤ ملليميكرون للكبريت .

ويجب إجراء صيانة دورية للكشاف من حيث نظافة بوابة اللهب وكذا ضرورة تغير الـ O-rings وتنظيف الكشاف كل ٦ شهور ويوضح شكل (٧-٣٦) نماذج مختلفة لمداخل الهواء والهيدروجين بأنواع مختلفة من كاشفات اللهب الضوئي .



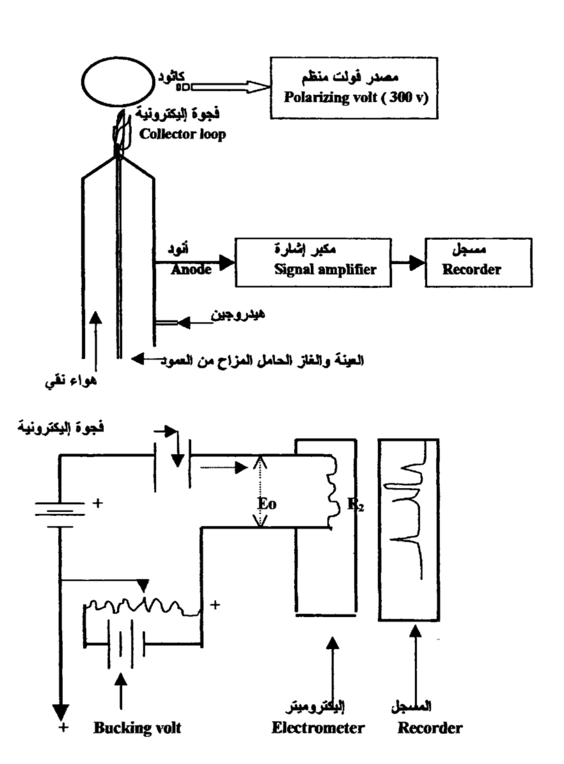
شكل (٧-٣٦) :نماذج لمداخل الهواء والهيدروجين بأنواع مختلفة من الكاشف باللهب الضوئي.

٥-٣-كاشف اللهب المتأين (Flame Ionization Detector : FID) :

وهو كشاف غير متخصص حيث يعطي استجابة لأي مادة عضوية وهو حساس بالقدر المناسب للمبيدات العضوية والملوثات فيما عدا المركبات الهالوجينية ونجد أن حساسيته تتراوح بين ٢٥-٥٠٠ ميكروجرام لذا يفضل استخدامه في تحليل مستحضرات المبيدات من حيث مدي مطابقة المادة الفعالة وكذا بعض المواد الإضافية بها للمواصفات .

وأساس عمل الكاشف هو احتراق غاز الهيدروجين في وجود الأكسيجين عند قمة اللهب (Flame tip) فينشأ تولد في الجهد الفولتي بين الأنود والكاثود وعند مرور جزئيات المركب أو مكونات العينة المزاحة من العمود تخترق اللهب وتحترق ويحدث لها تأين يكون من نتيجته خروج إليكترونات وأيونات سالبة تزيد من الجهد بين الأنود والكاثود ويؤدي ذلك إلي زيادة الإشارة التي تغذي جهاز قياس فرق الجهد الكهربي : وحدة الإليكتروميتر (Electrometer) ، شكل رقم (٧-٣٧) .

ونجد أن هذا الكاشف يعطي استجابة خطية تبلغ ١٠ ^٧^ وتتأثر حساسيته بمعدل انسياب الغاز وقوة الفولت المستعمل في اللولب المجمع (Collector loop) حيث يجب تنظيفه دورياً في حالات انخفاض الحساسية أو بزيادة ظهور الضوضاء بالكروماتوجرام وكما سبق القول فإن هذا الكاشف غير متخصص حيث يستجيب لكل المركبات العضوية فيما عدا حمض الفورميك والفورمالدهيد.



شكل رقم (٧-٣٧) رسم تخطيطي لدائرة كاشف اللهب التأين (FID)

٥-٤-كاشف اللهب المتأين القلوي(Alkali Flame Ionization Detector : AFID):

يستخدم في تتبع الهيدروكربونات العضوية المحتوية علي الفوسفور أو النيتروجين أو الكبريت إلا أن حساسيتة للمركبات المحتوية علي الفوسفور تكون أعلي مقارنة بالمركبات المحتوية علي نيتروجين وكبريت حيث قد تقل عن المستوي السابق بمعدل يصل ١-٣ أضعاف الاستجابة للمركبات المحتوية علي فوسفور . ويماثل هذا الكاشف السابق إلا أن اللهب يحرق ملح قلوي (Alkaline Salt) وميكانيكية عملة غير معلومة بالضبط حتى الآن إلا أنها تعتمد علي تأين الذرات القلوية نتيجة الإحتراق مع الإنجذاب الشديد للإليكترونات. شكل (٧-٣٨).

ومن أمثلة الأملاح القلوية التي يمكن حرقها مع اللهب كلوريد البوتاسيوم (KCl) وكبريتات الرصاص ($Pb_2 SO_4$) والأخيرة أفضلها حيث تعطي أقوي أستجابة للمركبات المحتوية علي نيتروجين .

ويختلف تصميم الكاشف تبعاً لوضع اللهب فقد يقوم بوظيفة مزدوجة:

- تسخين الملح القاعدي وحرق العينة .
- أو يقوم بوظيفة منفردة حيث يستعمل خرزة التسخين الكهربي (Heated bead) حيث يؤدي ذلك إلي اختزال الضوضاء بالكروماتروجرام
- أو قد يستخدم التصميم المحتوى علي ثلاث إليكترودات.

ويتميز هذا الكاشف بانخفاض سعره وارتفاع حساسيته ولكن يحتاج لمعايرة مستمرة لتطاير أبخرة الملح للعمود تدريجياً مما يؤثر علي حساسيته، كذلك تتأثر حساسية بنوع الملح القلوي ومعدل انسياب الغاز والإمداد المستمر من ملح القلوي .

وتصل خطيته (linearity) إلي ١٠٠٠ للمركبات الفوسفورية ، ٥٠٠ للمركبات المحتوية علي نيتروجين .

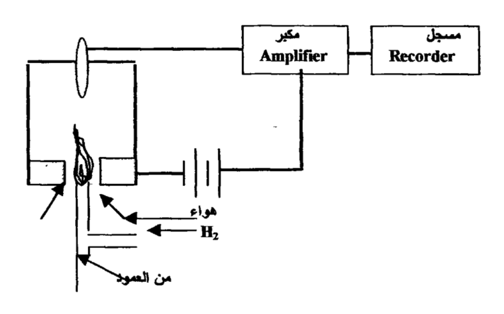
و مدي استشعاره (Detectability) يصل إلي:

- ١,٥ × ١٠ $^{-١٤}$ جم/ ث ذرة فوسفور/جزئي .
- ١ × ١٠ $^{-١٢}$ جم/ث نيتروجين/جزئي

أما عامل التخصص (Specificity factor) : فيبلغ ١٥٠٠ للـــهيدروكربونات العضوية .

وللحصول علي قياسات عالية الدقة يجب الأخذ في الأعتبار ضبط أمثليـــة الكاشف (Optimum) وذلك من خلال:

التحكم في معدل السريان (Flow rate control): حيث يجب وأن يكـــون معـــدل سريان الهيدروجين في أمثل معدلاته (٤٠ - ٤٥ ملل/د) حيث أن أقل تغيـــير في معدل السريان (٠,٠١ ملل/د) يؤدي لخط أساس غـــير منتظـــم ولـــهذا يوصي باستخدام المنظم ثنائي المرحلة (2- Stage regulator) علي مصدر الغـــاز مـــع منظـــم آخـــر للضغـــط (Fischer covernor) بيـــن المصـــدر والعمـــود الكروماتوجرافي حيث يضبط المنظم الثنائي علي ٤٠ باوند/ بوصة مربعـــة (psi) ويضبط فيشر علي ١٠ - ١٥ باوند / بوصة تدخل بعـــد ذلـــك علـــي الصمام الابري (needle value) وبالتالي يكون التحكم أدق عما لو ضبط الصمام الأبري نفسه علي ٤٠ باوند / بوصة٢ (للهيدروحين) أمـــا بالنســـبة لمعـــدل سريان النيتروجين فيضبط علي ٤٠ملل/ د إذا كان قطـــر العمـــود الداخلـــي ٢ملل وهنا يكون مستوي الضوضاء ١٠^-١٣ - ١٠^-١٤ أمبير ويكون الأســـاس ٣٠ × ١٠^-١٢ أمبير وهذا يعطي أقصي إســـتجابة وحساســـية فـــي تقديـــر الثيونوفوسفات العضوية.



شكل رقم (٧-٣٨) رسم تخطيطي لدائرة كاشف اللهب المتأين القلوي

مصادر تلوث الكاشف:

- استخدام أعمدة كروماتوجرافية ملوثة خاصة المعبأة بواسطة SE – 30 أو OV – 17 أو المماثلة لها والتي غالبا ما تدمي (Bleeding) حيث يحترق الطور السائل (سيليكون) في الشعلة إلي ثاني أكسيد السيليكون (SiO_2) فيترسب علي كرة الملح فينخفض تيار الأساس وبالتالي تنخفض الحساسية. وتكمن المشكلة في سوء تهيئة العمود (column conditioning) والتي يجب وأن تكون ٤٨ ساعة علي درجة حرارة أقل من الدرجة اللازمة للطور السائل بمقدار ٢٥–٥٠ °م مع عدم توصيل الكاشف.
- الاشتقاق (Derivatives) : وهنا تستخدم مشتقات empolycicetates أو أنواع مماثلة غير محتوية علي السيليكون حيث لا يستخدم تراي ميثيل سيليل (Tri methyl sylil).
- المذيبات (Solvents) : كالبنزين من حيث صفات الحرق والمسبب لترسيب الكربون علي قمة الملح (Salt tip) فتقل الحساسية فحرق مذيب نقي شرط أساسي لتقليل التلوث وعليه فالمذيبات الموصي بها هي خلات الميثيل أو الإيثيل أو الأسيتون أو الايثر أو أي مذيب آخر مؤكسجن.

كما ويجب بالأخذ في الاعتبار النقاط التالية:

- تنظف كرة الملح (Salt belt) بواسطة الكشط أو الصنفرة وإن لم يجدي الصنفرة تصقل بعد فكها وتلميعها ثم يعاد تثبيتها مرة أخري وإن لم يجدي ذلك يركب طرف جديد حيث أنه من الضروري إمداد مجال اللهب بتركيزات ثابتة من القلوي للحصول علي درجة عالية من الحساسية.
- فعدم صيانتها يخفض الحساسية ويقل التيار الأساسي والذي يمكن تحسينه بعض الشيء من خلال زيادة معدل سريان الغاز.
- ويلاحظ أنه لا يجب تشغيل الكاشف أمام مروحة أو تكييف لتأثيرهما علي الضوضاء فيعطي خط أساس غير منتظم .
- لا يجب تشغيل الكاشف علي درجة حرارة أعلي من ٢٥٠ °م فهي لا تؤثر علي الكاشف ولكن تزيد الضوضاء خاصة درجات الحرارة الأعلى من ٢٥٠ °م .

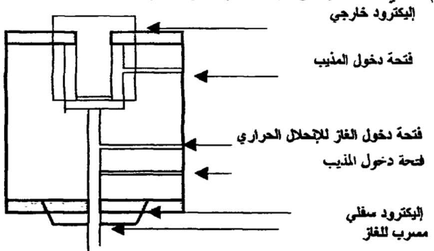
٥-٥-كاشف التوصيل الإليكتروني (Electrolytic Conductivity Detector):

يستخدم في تقدير المركبات الهيدروكربونية العضوية والمحتوية علي نيتروجين أو هاليدات أو كبريت حيث تبلغ حساسية المركبات المحتوية علي هالوجينات إلي ١٠ ٤ مرة قدرة المركبات المحتوية علي نيتروجين أو كبريت خاصة مع توافر الظروف المؤكسدة .

أما تحت الظروف المختزلة فإن الهالوجينات والنيتروجين تعطي حساسية عالية حينما تعطي المركبات المحتوية علي كبريت حساسية أقل، أما المركبات الهيدروكربونية المحتوية علي أكسيجين فلا تستجيب لها .

ويتركب من فرن حراري وقنطرة موصلة للجهد بخلية الكاشف ، شكل رقم (٧-٣٩) .

ويعتمد فكرة التقدير علي التحلل الحراري (Pyrolysis) للمكون ، لذا يستخدم غاز الهليوم الحامل ومعه مادة البلاتينيم (platinum) كعامل مساعد في أنبوبة التحليل خاصة مع الاختزال مما يعطي حساسية واستجابة عالية في حالة الهالوجينات العضوية وقد تستخدم النيتروجين أو الهليوم كغاز حامل مع مادة البلاتينيم كعامل مساعد بنظام الأكسدة فينتج من سريان عملية التحلل مع ماء غير متأين انحلال الأيونات المطلوبة حيث تسير مع الماء لخلية التوصيل وبمرورها يؤدي لتكوين تيار يتناسب شدته مع تركيز الأيونات ثم تغذي بهذه الإشارة وحدة الإليكتروميتر.



شكل (٧-٣٨) : يوضح تركيب كاشف التوصيل الأليكتروليت

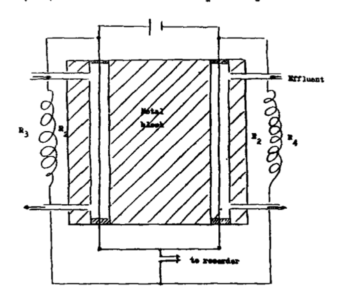
ويتطلب العمل بهذا الكشاف استعمال عينات علي درجة عالية من النقـــاوة مما يصعب من الوصول إلي الحساسية المثلي المطلوبة للمبتدئين في مجــــال تحليل مخلفات السموم بمكونات الأنظمة البيئية.

٥-٦-كاشف التوصيل الحراري(Thermal Conductivity Detector : TCD) :

وهو كاشف حساس ومستقر من حيـــث اســـتجابته ، بسـيط الـــتركيب ويستجيب إلي درجة توصيل الغاز للحرارة .

ويستعمل في تقدير كل المركبات العضوية والغير عضويـــة وباســـتجابة منتظمة تبلغ ١٠ ⁴ .

ويتركب من سلك دقيق من البلاتين (أو التنجستين) يسخن كهربيا فتتغـــير درجة حرارته عند مرور الغاز ثم عند مرور الغاز الحامل ومعـــه مكونـــات العينة المفصولة حيث يستجيب للتغير الطفيف في الحرارة بسبب تغـــير فـــي المقاومة والتي تظهر في صورة إنحراف بالجلفانومتر لعـــدم التـــوازن فـــي قنطرة وستن حيث تكبر هذه الإشارة ليتسني بها تحريك قلم يتحرك بســـرعة منتظمة علي شريط ورقي لأعلي ولأسفل ، شكل رقم (٧-٣٩) .



شكل رقم (٧-٣٩):شكل تخطيطي لدائرة كاشف التوصيل الحراري.

أي أن خروج أي مكون مفصول بسبب نقص كبير واضح فـــي درجـة لتوصيل الحراري للغاز فيستجيب لها الكاشف .
لهذا يفضل غازي الهيدروجين والهليوم كغازات حاملة (gas Carriers) لكبر معاملهما التوصيلي للحرارة والذي يبلغ ٦-١٠ مرة قدر الغازات الأخرى.

٥-٧-كاشف الميكروكلولومتريك : (Mirco Coulometric Detectors : MCD)

كاشف متخصص للمركبات الهيدروكربونية العضوية المحتويـــة علـــي الكلور أو البروم أو اليود عدا المركبات المحتوية علي فلور .

وتصل حساسيته إلي الجزء في المليون أو البليون(Part per million/ billion) أما حساسيته بالمركبات الفوسفورية العضوية خاصة المحتوية منـــها علـــي كبريت : ثيونوفوسفات (Thionophosphat) فتتحل بخلية البلاتنيبـــوم (J-200-P) لحمض كبريتيك وتصل الحساسية إلي جزء في المليون .

وتعتمد فكرة الكاشف علي الانحـــلال الحــراري (Pyrolysis) للمركبـــات المراد تحليلها في فرن الاحتراق حيث :

- تتحل المركبات الهيدروكربونية العضوية المحتوية علي كلور عنـــد درجة ٩٠٠ °م فتعطي في وجود الأكسجين ($H^+ - Cl^-$) .
- أما المحتوية علي فوسفور فتتحل علي درجـــة ٩٥٠ °م فـــي وجــود الهيدروجين إلي فوسفين (phosphine) .
- أما المركبات النيتروجينة فتتحل لأمونيا في وجود المنشطات كـالنيكل وأكسيد الماغنسيوم وفي وجود الهيدروجين .
- أما المركبات الكبريتية فتتحل علـــي درجـــة ١٠٠٠ °م فـــي وجــود الأكسجين إلي ثاني أكسيد الكبريت.

ويرتبط بالفرق وحـــدة معـــايرة (Titration cell) تحتــوي علـــي أربعـــة إليكترودات ، شكل رقم (٧-٤٠) :

٥-٧-١-إليكترود قياسي (Reference electrode) :

وهو سلك بلاتينيوم مغطي بالفضـــة (Silver plated platen) تركـيز ثــابت ومحاط بمحلول مشبع من خلاف الفضة ويعمل كنظام إليكـــترودي حســاس يحافظ علي ثابت أيون الفضة علي السطح المعدني .

٥-٧-٢-إليكترود حسي (Sensor electrode):

سلك مربع من الفضة مغطي بالبلاتنيوم (platen plated silver) وموضــــوع في محلول إليكتروليتي فيحدث أختلاف في الجهد (potential difference) بيــــن الإليكترود الحسي (S) والقياسي (R) فيسجل علي المكبر، أما في حالة عـــدم وجود عينة فيكون مقدار الطاقة بالمكبر يساوي صفر.

٥-٧-٣-مولد مصعدي (Generator anode) :

ويصنع من الفضة .

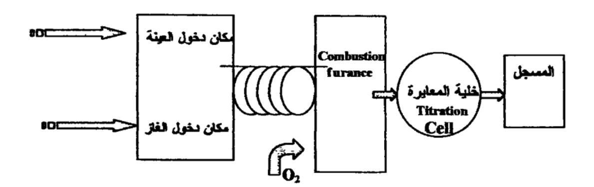
٥-٧-٤-مولد (Generator Cathode)

ويصنع من البلاتينيوم.

وتعتمد فكرة خلية المعايرة والتي تسمي بخلية (Halogent 200 – Silver cell) علي التأكسد الحراري للمركب في وجود الأكسيجين أو علي الاخـتزال فـي وجود الهيدروجين والمزاح من العمود فتتحول العينة لأيونات مناسبة تدخـل وحدة المعايرة فيتم التفاعل بين هذه الأيونات وأيونات الإليكتروليت بالخليـــة فيحدث اختلاف في الجهد حيث يبلغ عند التركيز الأمثل لأيون الفضـــة ٢٥٠ ملليفولت بين الإليكترود القياسي (R) والحس (S).

وعند دخول أبخرة مركب كلوريني للخلية يتفاعل مع أيون الفضة فيقـــل تركيزها فيتغير الفرق في الجهد بين الإليكترود القياسي والحسي ونتيجة ذلـك يملىء قطبي المولد ثانية بأيونات بالفضة وهنا تكون كمية التيار المحتاج إليـه لملاشاة هذا التغير في مستوى أيون الفضة لكي يعود لحالتـــه الأصلـــة ٢٥٠ ملليمفولت يتم إرسالها للمسجل ، شكل رقم (٧-٤٠) .

ويمكن قياس تركيز المركب بمستوي حساسية يبلغ النانوجرام ويقل مـع المركبات الفوسفورية العضوية الثيونية (ثيوفوفوسفات) إلي الميكروجرام .



شكل رقم (٧-٤١) : رسم تخطيطي للجهاز وخلية المعايرة الأوتوماتيكية للكاشف

وبعد هذا الأستعراض المبسط لبعض كشافات الكروماتوجراف الغـــازي والتي تم تطويرها لتتلائم مع أغراض التحليل المختلفة يوضـــح جـــدول (٧-١١) تلخيص لأداء بعض كاشفات الكروماتوجرافي الغازي وأهم خصائصها.

جدول رقم (٧-١١) :ملخص لأداء بعض كاشفات الكروماتوجراف الغازي

Detector	Responds To	Operating Range	Linearity	Gases Required For Operation	Advantages	Disadvantages
Flame Ionization	All organic compounds except formic acid and formaldehyde	10^{-9} to 10^{-2} g	10^{7}	Helium, nitrogen or argon as carrier gas. Hydrogen and air as combustion gases	1 Most generally used detector for organic analysis 2 Very sensitive 3 Wide linear range	1 Requires three separate gas supplies 2 Does not respond to formic acid and formaldehyde
Thermal Conductivity	Both organic and inorganic compounds	0.5×10^{-7} to 10^{-2} g	10^{4}	Helium (or argon) as carrier gas	1 Easy to use 2 No fire hazard 3 Only one gas supply required 4 Responds to inorganic compounds 5 Non destructive	1 Limited sensitivity 2 Limited linearity
Electron Capture	Halogenated compounds e.g pesticides, herbicides	10^{-13} to 10^{-8} g	10^{4}	Nitrogen as carrier gas Nitrogen/ methane as quench gas	1 Very sensitive to halogenated compounds	1 Can be difficult to use 2 Easily overloaded by large sample injections 3 Easily contaminated
Alkali Flame Ionization	Phosphorus or nitrogen containing compounds e g. Drugs, herbicides	(a) Phosphorus 5×10^{-11} to 10^{-7}g (b) Nitrogen 10^{-9} to 10^{-8} g	(a) 10^{3} (b) 5×10^{2}	Nitrogen or argon as carrier. Hydrogen and air as combustion gases	1 Selective	1 Needs frequent calibration
Flame Photometric	Phosphorus or sulphur containing compounds e.g pesticides, herbicides	(a) Phosphorus 5×10^{-11} to 10^{-8}g (b) Sulphur 3×10^{-10} to 10^{-8} g	(a) 10^{3} (b) 10^{3} obeying square law response	Nitrogen or argon as carrier. Hydrogen and air or oxygen as combustion gases	1 Very selective	1 Square law of sulphur mode presents difficulties 2 Response affected by contamination

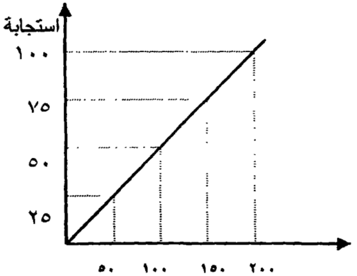
استجابة الكاشف (Detector response) :

يلزم عمل معيرة (Calibration) لتقدير مدى استجابة الكاشف للتركيز المقاس من المادة المفصولة وهنا يجب الآخذ في الاعتبار أن يكون تركيز المادة داخل مجال استجابة الكاشف.

كما يجب أن يسبق عملية التقدير الكمي لمركب تقدير مدى الاستجابة الخطية للكشاف المستعمل والتي تختلف عن الاستجابة التناسقية كما يلي :

١ – الاستجابة الخطية للكاشف Linear response :

حيث تكون الزيادة في استجابة الكاشف بنفس درجة مدى تضاعف التركيز فزيادة التركيز للضعف يؤدى لزيادة استجابة الكاشف للضعف أي أن الإشارات الناتجة من الكاشف تتناسب طرديا مع درجة التركيز وبالتالي يحصل منها على خط مستقيم ويمكن توضيح ذلك برسم العلاقة بين لوغاريتم التركيز وحساسية الكاشف على ورق نصف لوغاريتمي أو لوغاريتمي شكل رقم (٧-٤٢) :



شكل رقم (٧-٤٢) : منحني الاستجابة الخطية للكاشف

- فإذا كانت الاستجابة الخطية لحقنة ٥ ميكرولتر من نفس المركب القياسي (٢٠٠ بيكوجرام) هي ٥٠ مللم

- فإن الاستجابة الخطية لحقنة ٥٠ ميكرولتر من نفس المركب القياسي (٢٠٠٠بيكوجرام) هي ٥٠٠ مللم
- بينما كانت الاستجابة الخطية لحقنة ٥ ميكرولتر من العينة ٥٠مللم
- وعليه يكون التركيز = [استجابة العينة (٥٠) x تركيز المركب القياس (٢٠٠ مللم) / استجابة المركب القياسي (٥٠)
- في حالة الاستجابة الخطية = ٢٠٠ بيكوجرام (نفس تركيز المركب القياس حيث أن العلاقة خطية فيمكن حساب التركيز من المعادلة مباشرة
- وقد يمكن استخدام العلاقة الرياضية لمنحنى قياسي (K^-) يربط العلاقة بين التركيزات المتدرجة ومساحة المنحنى لاستخراج قيمة أي تركيزات غير معلومة من خلال :

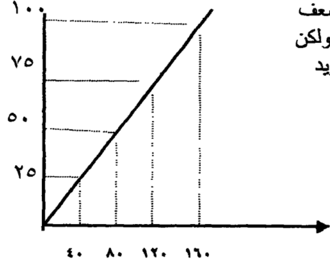
K = استجابة الكاشف (Detector response) / التركيز (Concentration)

حيث يتم الحصول على قيمة K من المنحنى القياسي كما سبق الإشارة إليها من قيمة ارتفاع المنحني (peak height) على الكروماترام الخاص بفصل المركب القياسي أو العينة مجال التقدير.

٢-الاستجابة التناسقية للكاشف (Proportionate response) :

حيث تزداد استجابة الكاشف بزيادة التركيز ولكن ليس بنفس الدرجـة (النسبة) التي يتضاعف بها التركيز . والاستجابة هنا يمثلها خـط مسـتقيم ولكن تختلف درجة ميله (Slope) :

بمعنى أنة بزيادة التركيز للضعف تؤدى لزيادة درجة الاستجابة ولكن ليست للضعف ربما أقل أو أزيد ،شكل رقم (٧-٤٣) :



شكل رقم (٧ -٤٣): منحنى الاستجابة المتناسقة للكاشف

- فإذا كانت الاستجابة لحقنة ٥ ميكرولتر من المركـــب القياســي (٣ نانوجرام) هي ١٠٠ مللم .
- فإذا كانت الاستجابة لحقنة ١٠ ميكرولتر من نفس المركب القياســي (٦ نانوجرام) هي ١٨٠ مللم.
- بينما كانت الاستجابة لحقنة ٥ ميكرولتر من نفس العينة تســلوى ٥٠ مللم.
- وعلية يكون التركيز =

(استجابة العينة (٥٠) x تركيز المركب القياس(٣))/استجابة المركب القياس(١٠٠) في الاستجابة التناسقية = ١,٥ نانو جرام .

بينما يظهر من المنحنى القياسي لقيمة (K) أن استجابة مقدارهـــا(٥٠ مللم من العينة تقابل تركيز مقدار ١ نانوجرام وعليـــة يتضـــح خطـــا الحساب بالمعادلة السابقة ولذا فهي لا تصلح في حالة الاستجابة التناسقية.

حيث أن % للخطا بين التقدير بين = (١,٥ – ١) × ١٠٠ ٣٣ %

وعلية لابد من عمل المنحنى القياس وحساب قيمة K .

استخدام مواد قياسية داخلية (Internal standards) :

تتغلب هذه الطريقة على جميع المشاكل التي سبق ذكرها في الطريقة السابقة وفيما يلي شرح هذه الطريقة :

- تضاف مادة I إلى مخلوط يحتوى على مادة معينة يراد تقديرهـــا X ثم تحلل وينتج كروماتوجرام وحيث أن مساحة المنحني (Peak) تتناســب طرديا مع وزن المادة المحقونة في حالة ما إذا كان الكاشـــف يســتجيب خطيا مع التركيز :

فإن $A \alpha W$.

وبالنسبة لمنحني المادة (Peak x) في الكروماتوجرام فإن :

$$W_x K_x = A_x$$

حيث أن A_x = مساحة ال $Peak_x$

W_x = وزن المكون x

K_x = معامل الاستجابة للمكون x

وبالنسبة لمنحني (Peak i) في الكروماتوجرام السابق فإن :

$W_i K_i = A_i$

حيث أن A_i = مساحة المنحني، $peak_I$

W_I = وزن المكون $_I K_I$ = معمل الاستجابة للمكون I .

وبقسمة المعادلة الثانية على المعادلة الأولي :

$$W_x = K . W_I \,/\, W_x K / W_I K_I = A_x / A_I$$

حيث $K = K_x / K_I$.

وبذلك فإن $W_x A_I / W_x K_I = A$.

فإذا احتوت عينة على أوزان معروفة من المواد I ، X فعند حقنـــــها نحصل على كروماتوجرام وبحساب المساحة نستنتج قيمــــة K وفــي حالـــة العينات التي تحتوى على كميات غير معروفة من X ومضاف إليها كميــــات معروفة من I فعند تحليلها نحصل على كروماتوجرام تحسب منــــه مســـاحة المنحنيات ومن معرفة K في التجربة السابقة نستنتج وزن المادة X وتسمى المادة I باسم مادة قياسية داخلية ويجب أن يتوفر فيها الشروط التالية :

- تذوب مع العينة المراد تحليلها.
- لا تتفاعل مع أي مكون من مكونات العينة .
- تعطى منحني واحد لا يتداخل مع أي مكون من مكونات العينة
- قيمة R_t له لا تكون قريبة للمكون المراد تقديره .

وتنطبق جميع الشروط السابق ذكرها عمليا على المركبـــات التـــي لـــها التركيب الكيماوي متقارب مع المكون المراد تقديره.

ومن مميزات هذه الطريقة هو أن حجم العينـــة ليس مطلـوب معرفتـه وثبات الجهاز ليس مطلـوب بـالقدر المطلـوب كمـا فـي طريقـة استعمال مواد قياسية خارجية بالإضافية إلى انه تتغلب على مشكلة فصـل المـواد فصـلا كـاملا مـن العمـود وأيضـا اختـلاف استجابة الكشـاف للمركبـات المختلفة وخاصة مع الكاشف (FID) .

معرفة عدد ذرات الكربون في المركبات ذات السلسلة المتجانسة :

يلاحظ في المركبات ذات السلسلة المتجانسة (هيدروكربونات – أحماض اليفاتية – كحولات أولى ......الخ) أن الوقت الذي يأخذه مركب معين

يحتوى على عدد من ذرات الكربون ليخرج من العمود (تحت ظروف ثابتة من حيث درجة الحرارة وسريان الغاز) يرتبط مباشرة بوقت ظهور المركبان اللذان يحتويان على عدد (n+1) (n_1) من ذرات الكربون كما في المعادلة التالية :

معامل فصل مجموعة مثيلين واحدة(Methylene separation factor : F)

$$ {}^{t}n + 1 / {}^{t}n = {}^{t}n / {}^{t}n-1 = $$

والمعادلة التالية تبين معامل الفصل لمجموعتين مثيلتين :

$$ {}^{t}n = {}^{t}n / {}^{t}n - 2 = F_2 \; / \quad {}^{t}n + 2 $$

وباستخدام المعادلتين يمكن استنتاج عدد ذرات الكربون في المركبات المفصولة .

ويقدر عمليا طول السلسة لعدد من المركبات ذات السلسة المتجانسة كالأتي :

يجرى التحليل الكروماتوجرافي الغازي لثلاثة أو أربعة مواد قياسية (كل واحد مختلف عن الأخر بذرتين كربون) لهم نفس التركيب الكيماوي للمركب المجهول طول سلسلته على طور ثابت مناسب وتحت ظروف مناسب وثابته . تحسب أرقام الظهور للمركب القياسية ويؤخذ أحد هذه المركبات كمرجع وتحسب أرقام الظهور النسبية ثم لوغاريتماتها .

ترسم العلاقة ما بين لوغاريتم أرقام الظهور النسبية وعدد ذرات الكربون بيانيا. تحسب أرقام الظهور للمنحنيات المجهولة ثم أرقامها النسبية باستخدام المركب القياسي السابق استخدامه. تحسب لوغاريتمات أوقات الظهور النسبية للمنحنيات المجهولة ومنها يستنتج عدد ذرات الكربون باستخدام الرسم البياني والرسم البياني التالي يعتبر نموذجا لمعرفة طول السلسة للمنحنيات الغير معرفة :

يعتمد وقت الظهور (t_R) للمركبات على تركيبها الكيماوي فمثلا :
١-ترتيب أوقات ظهور المركبات الهيدروكربونيـــة والأحمـــاض المشـــبعة والأيسو و Anteiso والتي لها نفس عدد ذرات الكربون سواء على الأطـــوار القطبية أو الغير قطبية كما يلي : n > Anteiso - > Iso
٢ – ترتيب أرقام ظهور المركبات الهيدروكربونية والأحماض الغير مشبعة التي لها نفس عدد ذرات الكربون كما يلي :
٢-١-طور قطبي : Saturated > Monoene > Diene > Triene > Tetraene
٢-٢-طور غير قطبي: Saturated < Monoene < Diene < Triene < Tetraene
٣ – يتوقف وقت الظهور للكحولات على موضع مجموعـــة الهيدروكســيل فالكحولات لها وقت ظهور أكبر من المركبات الهيدروكربونية والأحمـــاض التي لها نفس عدد ذرات الكربون ويرتب وقت ظهورها سواء على الأطـــوار القطبية أو الغير قطبية كما يلي :

Secondary alcohol < Tetraene alcohol < Primary alcohol

٦ – المكبرات : وحدة الإليكتروميتر(Amplifiers : Electrometer) :

تكبر الإشارات الناتجة من الكاشف قبل أن تصل إلـــى المســـجل ولكـــي تصبـــح الإشـــارات معقولـــة أي أن ارتفاعـــات المنحنيـــات تقـــع داخـــل الكروماتوجرام فأنة يستخدم مفتاح يسمى ال Attenuator للتحكم فـــي مقـــدار الإشـــارات الصـــادرة مـــن الكاشـــف وقيمـــه هـــي مضاعفـــات القيـــم : X1; X2 ; X4 ; X8 ; X16 ; X32 ; X64 ; X128 ; X256 تحـــت القيـــم الأساســـية : 10^3 ; 10^2 ; ١٠ ; ١ فأكبر قيمة له تمثل الإشارة الأساسية الخارجـــة من الكاشف وهى X1 – والقيم الأخرى أقل منها حيث تقلل الإشارة الأساســـية بمقدار هو النسبة ما بين القيمة الموضوعة إلى أقصى قيمـــة فمثـــلا منحنـــي ارتفاعه ٥ سم باستخدام X2 فإن المنحني يكون ارتفاعه = ١٠ سم باســـتخدام X1 . وهذه القيم مهمـــة جـــدا فـــي تحديـــد ارتفاعـــات المنحنيـــات علـــى الكروماتوجرام فمثلا عند حقن مركب وأعطى منحنـــي ذو ارتفـــاع معيـــن والمطلوب هو خفض الارتفاع بمقدار العشر فإنه يوضع المفتاح علـــى قيمـــة بحيث ينخفض الارتفاع بمقدار ١٠ مرات – وإذا خـــرج المنحنـــي خـــارج

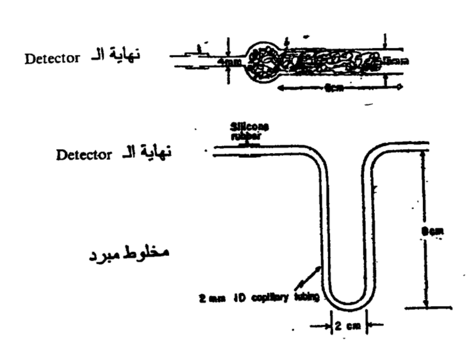
الكروماتوجرام فإنه بزيادة قيمة ال Attenuator يخفض ارتفاع المنحني .
ويوجد مفتاح يسمى Back off Control على المكبر يلغى الإشارات الغير مرغوبة عن طريق إضافة تيار كمعوض (Compensating current) .

٧ –المسجل (Recorder) :

يستجيب المسجل لأي إشارة كهربية يستقبلها من الإليكترومتير والذي يأخذ بدوره من الكاشف وعلى قد ما تأتى له هذه الإشارة مكثفة فإن القلم يبتعد أكثر من خط الأساس . ولمعظم المسجلات قابلية لتلقى الإشارة من صفر وحتى ١ ملليمفولت . يراعى تصغير المسجل يوميا وقبل بدء العمل ويستخدم المسجل في التحليل الروتيني قلم حبر مفرد وتكون استجابته من ٠,٠٢٥ إلى ٢,٠ ثابتة ومزود بمفتاح يحكم سرعة Chart حسب رغبة القائم بالتحليل .
ويلاحظ أثناء عملية التشغيل يتم :

- تصغير كل من وحدتي المسجل والاليكترومتير .
- تقدير التيار الأساسي (B G) الخاص بالكاشف باستخدام مفتاح B uccking لتصغيره .
- حقن العينة يتم بعد ضبط حرارة الفرق والكاشف تبعا للطريقة المتبعة كذلك ضبط معدل سريان الغاز الحامل (ملل / د).

وما هو جدير بالذكر أنه في بعض الأحيان قد يتطلب التحليل فصل وتعريف مكونات العينة لذا يلزم استخدام Fraction collector حيث يستعمل لفصل المركبات النقية الفردية للتحليل الاسبكتروسكوبى والتعرف عليها ودراسة تركيبها . وتستخدم أنواع من Collectors للمركبات ذات درجة الغليان المرتفعة نسبيا (أكبر من ك ١٠) شكل (٧ –٤٤) كإسترات الميثايل والكحولات وهيدروكربونات بشكل أنبوبة معبأة بأحكام بقطن صوفي Cotton wool خالي من الدهن أو صوف زجاجي مبلل بكحول ميثانول أو أيثر البترول وعندما يظهر المنحني توصل الأنبوبه بأخرى عندما يظهر منحني آخر . وفى حالة المركبات الأكثر تطايرا تستعمل أنابيب على شكل حرف U ويجب تبريدها بوضعها في حمام يحتوى على مخلوط من الأسيتون والثلج



شكل رقم (٧-٤٤) : جامعات (Collectors) للمركبات تبعاً لدرجة غليانها

الجاف للتأكد من تمام تكثفها ولاسترجاع المادة المجمعة يغسل ال C ollector بواسطة ١٠ سم من أيثر البترول (٤٠ / ٦٠ م) ثم يبخر المذيب أما على حمام مائي أو بواسطة تيار من النيتروجين .

الاشتقاق (Derivtization) :

قد يصعب التحليل النوعى والكمي لمتبقيات بعض المركبات لطبيعتها الكيميائية سواء إنخفاض درجة أو ثباتها الحراري وقطبيتها العالية أو لضعف معدل الفصل بالعمود المستخدم لوجود التدخلات بها فتأخذ نفس وقت الاستبقاء وتتعدد أنواعها :

١-الاشتقاق بالألكلة (Derivatization by Alkylation) :
وغالبا ما تجرى للمركبات الهيدروكربونية العضوية و المركبات الكرباماتية العضوية ومركبات اليوريا وتتم باستخدام يوديد الميثيل أو هيدروكسيد الصوديوم في داى ميثيل سلفوكسيد مما يجعل المركب الأصلي أكثر ثباتا للتحلل الحراري .

٢-الإشتقاق بالاستلة (Derivatization by Acetylation) :
تتم عملية الاشتقاق بالأستله مع بعض المركبات المراد تحليلها فلقد أمكن تتبع مركب (Ethyl thephon) بعد عملية أستله بمركب داى آزوميثـان (Diazo methane) بمستوى ٠,٠٥ جزء في المليون مع كاشف اللهب الضوئي (FPD) وعملية الاشتقاق قد تكون :

- اشتقاق على الخط : (On line Derivatization) : وهنا يسخن المركـب المراد تحليله مع تترا ألكيل أمونيوم (Tetra alkyl ammonium) في كحـول الميثايل على درجة حرارة عالية عند الحقن وهو ما يحدث مـع مركـب فينيل – ن – ميثيل كربامات باستخدام مادة تراى ميثيل فينيـل أمونيـوم هيدروكسيد حتى يعطي المركب المراد تحليله مشتقات لها درجة تطـاير عالي يمكن قياسها . كذلك يمكن اشتقاق مركبات أوكسيم كربامـات مـع مادة تراى ميثيل فينيل أمونيوم هيدروكسيد (MRH) فينتج مركب اكساميل ميثوكيسم مع فقد مجموعة كربامات . كذلك أمكن تحويل متبقيات مركـب الكلورفوكسيم الموجودة في المواد الغذائية الأسماك إلـى تـراي ألكيـل فوسفات بوسطة المعاملة بترا ميثيل فينيل أمونيوم هيدروكسيد عند مكـان الحقنة على درجة حرارة ٢٨٠° م حيث كانت كفاءة التحويل تتراوح بين ٤١-٧٤ % (Conversion efficiency) . ويجب الأخذ في الاعتبار إمكانيـة حدوث تلوث لحدوث تحلل حراري للمـادة (TMAH) وخـروج بعـض النواتج الثانوية وكذلك تلوث قيمة الحقنة بالأجزاء المفتتـة مـن الحـاكم المطاطي والتي تعتبر من محددات استخدام هذه الطريقة .

- الاشتقاق على مواد صلبة (Solid matrix Derivatization) :

أستنبطت هذه الطريقة للإشتقاق على المواد الصلبة المنقوعة مع مـواد كاشفة مناسبة حيث تتكون المادة الصلبة من أعمدة صغيرة مشـبعة بأكسـيد ألومنيوم / أيدروكسيد بوتاسيوم أو أكسيد ألومنيوم / حمض كبريتيك أو أكسيد ألومنيوم / ثلاثي أو رباعي بوتاسيوم بيوتاكسيد مضـاف لأي منـها كميـة صغيرة من العينة المراد اشتقاقها عند الحشو باستخدام البـنزين ثـم يسـخن العمود لدرجة ولفترة مناسبة بعدها يتم فصـل العينـة بـالبنزين ثـم تحلـل كروماتوجرافيا كذلك تستخدم هذه الطريقة في تحليل الهبتاكلور والاندوسـلفان بالعينات البيئية والتي يصل فيها التركيز إلى ٥٠٥١ جزء في المليون .

وما هو جدير بالذكر أن تحضير المشتقات للسموم الكارباماتية وكـــذا مشتقات حامض الفينوكسي والتراى آزين تكون ذات أهمية نظرا لعدم ثباتـــها الحراري هذا بالإضافة إلى أنها ذات طبيعة قطبية تجعلها لا تتطـــاير علـــى درجات الحرارة المنخفضة لذا تجرى لها عمليات كيميائية مختلفـــة كالألكلـــة وغيرها للحصول على المشتقات المناظرة (المبيدات الكلورونيـــة لا تواجـــه هذه المشكلة) وفيما يلى جدول (٧-١٢) توضح تقديـــــر متبقيـــات بعـــض المركبات الهيدروكربونية العضوية الكارباماتية بدون اشتقاق مباشـــرة وكـــذا في حالات ما بعد الاشتقاق :

جدول (٧-١٢) تقدير متبقيات المركبات الهيدروكربونية العضوية والكارباماتية بدون اشتقاق (مباشرة) :

المـــركـــب	ظـــروف الفصـــل للعـــمـــود الكرومـــاتوجرافي الغازي	الكاشف
كارياريل	عمود طوله متر معبأ ١٥% S E-30 على جاز كروم(ب)١٠٠ -١٢٠ مش - مسيلل - ١٦٨ م .	AFID
ألديكارب-لاندرين برويكسر كارياريل ميثوميل موبام أمينوكارب ميكساكارْيامات كاربوفيوران ميكسا كاريامات	عمود ٦ قدم -١٠% (DC-200) على كروموسورب WHP (٨٠ -١٠٠ مش) متيلل - ١٨٠ م	CECD
كاريايل	عمود طوله ٣وم معبأ بمادة ٣% (SE-30) على كروموسورب Q (٨٠ - ١٠٠ مش) وعلى درجة ١٤٥ - ١٥٠ م.	ECD
ميثوميل	عمود طوله ١,٨ م معبأ بمادة ٦% (OV-210) / ٤% OV -١٠١ على جاز كروموسورب Q (٦٠ - ٨٠ مش) ، ١٦م	MC
كاربوفيوران وممثلاته	عمود ٢ قدم معبأ بمادة ٢٠% (S E-30) على جاز كروموسورب Z (٦٠ - ٨٠ مش) مسيلل - ١٦٥ م. أو عمود ٦ قدم معبأ بمادة ٦% (O V - ٢١٠) ٤% OV-101 (٦٠ -٨٠ مش) ، ١٦٠ م . أو عمود ٤ قدم معبأ ٣% A PIEZON (٨٠ - ١٠٠ مش) كروموسورب WHP ، ١٦٥ م.	MC CECD CECD - NP
كارياريل-ميثيوكارب- ميكساكاريامات بروميكارب	عمود ١,٧ م معبأ بالكروموسورب W (٦٠ -٨٠)مش مع معاملة بالكاريوواكس وعلى درجة ١٣٨ - ١٨٣ م.	AFID

بيريميكارب	عمود طوله ٠,٥ م معبأ بفينيل داى ايثانول أمين سكينات (١٠٠ – ١٢٠ مش) جازكروسوررب Q ، ١٨٠ م.	AFID
ميثالكاوات metalkmate	عمود طوله ٢ قدم ٥% R eoplex 400 + SE – 52 (٤ : ١) على كروموسوررب W (٦٠ – ٨٠ مش) ، ١٦٠ م.	MC

MC : Micro coulometric detector EC : Electron Capture detector
AFID : Alkali Falam lonization detector CECD : Coulson Electrolytic Eonductivity detector
N.P : Nitrogem phos phorus Detector

جدول رقم (٧-١٣) : اشتقاق المركبات الهيدروكربونية العضوية الكرباماتية لمجموع الفينول (Phenol Fragment)

المركب	الاشتقاق	نوع العينة
أثيرات :		
*بيوتاكارب-كارباريل-ميثيوكارب-بروبكسر	داىفيتروفينول	الخس – البسلة – القمح – ماء النهر
*كاربونولات-كارباريل-كاربوفيوران-ديكاربوفيوران هيركيولس-لاندرين-ميتالكامات-ميثوكارب-ميكساكارب-مويام-بروميكارب-بروبكسر.	داىنيتروفينول	الخس -السبانخ – الطماطم – الجزر- الكرنب -تفاح باذنجان بقوليات الخضراء
*كاربوفولات-كارباريل-كاربوفيوران-بروبكسر.	داى نيتروفينول	الذرة – القمح – أوراق الخضار-بقوليات الخضراء
*كاربوفيوران وممثلاته.	داى نيتروفينول	البطاطس – اللبة – البيض – أنسجة حيوانية.
*كارباريل-ميثيوكارب-بروبكسر.	داى نيترفينول +داى نيترو تراى فلور وميثيل فينيل	الخس – التفاح.
*كارباريل-كاربوفيوران.	داى نيتر تراى فلورومثيل فينيل .	ماء النهر
		ماء النهر
*ميتالكامات-كاربايل	داى نيترو PFB	
		ماء النهر + عينات تربة
*كاربوفيوان – كارباريل – كيتوكاربوفيوان	PFB	
أسترات : *كاربانولات – كارباريل	MCA	التفاح -أعشاب – كرنب – طماطم – لبن

تابع جدول رقم (٧-١٣) :

*كاربايل	MCA	برسيم – فاصوليا – بطيخ حلو
*بروبكسر	MCA	عينات الهواء
*بريديكسر –كاربايل –كاربوفيوران –امينو كارب –مياكسا كارباتة.	DCBS	الحصى والكرنب
*كاربوفيوان	DCBS	الذرة –اللبن
*كارباريل –مويام	TCA	تفاح –البطاطس –الأعشاب – بنجر
*كاربوفيوران وممتلاتة	TCA	خس –البطاطس–الطماطم – الذبة
*بروبكسروممتلاتة	TCA	البرسيم –الذرة – أعشاب– أنسجة حيوانية– لبن
فينول بالبروم :		
*كارباريل	Brominated naphthol Brominated acetate	بقوليات خضراء تفاح الذرة Trout bees beans تربة

جدول رقم (٧-١٤) : الاشتقاق لمجموعتى الأمين والكاربومويل

(Derivatization of Amine or Carbomoyl fragment)

المركب	الاشتقاق	المحصول الموجودة علية
– الديكارت– أميتوكارب–كاربونولات–كارباريل–كاربوفيوران– دايمتيلان–ميكسكاربامات–مويام بروبكسر–بيرولان.	داينتيروأنيلين	السبانخ–التفاح–بروكلى– الطماطم – الخضر كرنب . string beans
كارباريل–كوس بان– ميوبال–بروبكسر–Ts umacide hopcida	داى نيترو أنيلين	—
كارباريل–ميثوميل–ميكسكاربات.	داى نيترو أنيلين	rape seed oil
كارباريل–الديكارب–أميتوكارب–كارباريل–كاربوفيوران.	ميثيل–ن–ميثل كاربات. ٤ – بروموبيترا اميد	الخس
كارباريل	" " "	سبانخ –شيكوريا
ميثوميل	" " "	نوبلكو

تفسير نتائج التحليل الكروماتوجرافي :

١ – تفسير نتائج التحليل الوصفي (I nterpretation of Qualitative Analysis
يعتمد التحليل الوصفي على معرفة قيمة وقت الحبس المطلق أو وقت الحبس النسبي لأي مركب طالما أن ظروف التحليل ثابتة من حيث مواصفات العمود المادة المعبأة وكذا درجة حرارة العمود ومعدل سريان الغاز الحامل حيث أن أول خطوة في التعرف تكون مقارنة قيمة وقت الحبس المطلق للمركب المجهول مع مثيلتها لمركب معروف سبق فصله تحت نفس الظروف وقد يستدعى الأمر تأكيد النتائج باستعمال أعمدة أخرى معبأة بمواد أخرى .

ولتفسير نتائج التحليل الوصفي يلزم الحصول على بعض المعلومات الأولية عن نوعية هذه المركبات وهو ما يفيد خاصة إذا ما كان القائم بالتحليل قليل الخبرة .

ففي حالة ظهور منحنيات متداخلة (Overlapping multiple peaks) أو منحنيات غير منتظمة فإن هذا يشير لوجود مركبات أخري غير المكون المراد فصلة ويلزم فصلهم عن بعضهم في صورة منحنيات حادة غير متداخلة خاصة في حالات التحليل المتعدد للسموم ويلاحظ أن وقت الاستبقاء المطلق قد يحدث به تغير عند إعادة حسابه وتقديره وهو ما يحدث عندما يعاد التقدير مع زيادة عمر العمود أو كثرة استخدامه لذا يجب إعادة حشوه أو استبداله بأخر أو بسبب التذبذبات الحرارية أو لتغير في معدل السريان وهنا يعاد الفصل مرة أخرى ولكن على ظروف مختلفة للتأكد .

ويتم التعريف بقياس وقت الحبس المطلق بمدلولية المسافة التي ظهر عندها مركز المنحنى الخاص بالمركب ابتداء من وقت ظهور منحنى المذيب المذاب فيم مكون العينة .

أما وقت الحبس فهو النسبة بين الوقت اللازم مروره ابتداء من ظهور منتصف قمة منحنى المركب المجهول منسوبا للوقت المستغرق واللازم حتى ظهور منتصف منحنى المكون القياسي أو المرجع :

وقت الحبس النسبي (RR_t) = R_t (المكون) / R_t المرجع.

التعريف المبدئي أو الموقت أو الغير نهائي(Tentative Identification : TI):

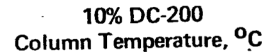
أمكن استخدام فكرة وقت الاستبقاء النسبي (RR_t) في التعريف المبدئـــي لمخلوط من عدة مركبات وذلك من خلال :

- حقن تركيز معين من المركبات القياسية النقية كل على وحدة حيـــث يتم حساب قيمة وقت الحبس المطلق لكل منها تحت ظروف تشغيل ثانيـة • ولزياة التأكد يمكن حقن مخلوط من المركبات القياسية الســابقة معـا تحت نفس الظروف فنجدها مطابقة لقيمة وقت الحبس لكل مركب قياسي بمفردة (Confirmatory test))
- يحقن المركب المجهول تحت نفس الظروف السابقة وتقارن قيمة وقت الحبس المطلق له مع القيم السابقة للمركبات القياسية ومنها يمكن معرفـة أسم المركب المجهول •
- ولقد طورت هذه الفكرة بمعامل وكالتي F DA , EPA حيث تـم حقـن جميع مركبات المجموعة الواحدة : جميع المركبات الفوسفورية العضويـة أو جميع المركبات العضوية الهيدروكربونية في عدة أعمدة مختلفـة ثـم تقدير قيم وقت الحبس لكل منها و بكل عمود عند درجات حرارة مختلفـة مع تثبيت باقي الظروف الأخرى •
- ثم يختار إحدى مركبات كل مجموعة ويعتـبر مرجـع (Reference) خاص لهذه المجموعة تحت عمود واحد ولكن باختلاف درجات الحـرارة حيث يعتبر مركب الألدرين هـو المرجـع للمركبـات الهيدروكربونيـة العضوية ومركب ميثيل باراثيون هو المرجع للمركبـات الفوسـفورية العضوية ثم تنسب إليها باقي قيم وقت الاستبقاء لباقي المركبات الأخـرى وتسجيل في جدول •
- وعندما يراد التعرف على مركب مجهول من هذه المجامع يتم حقنـة في إحدى الأعمدة السابقة التي حقن المركب عليها وعلى نفس ظـروف الفصل ثم يحسب قيمة وقت الاستبقاء النسبي له ثم تقارن بمثيلتـها فـي الجدول الخاص بنفس العمود وتحت نفس ظروف الفصل وبعد التعـرف المبدئي أو المؤقت عليها ومعرفة أسمها يؤخذ هذا المركب ويتـم عمـل تركيز منه ثم يحقن علي نفس الظروف وهنا نجد أن قيمة وقت الاسـتبقاء المطلق للمركب المجهول هي نفسها بالجدول .

- ولزيادة التأكد يتم حقن ١٠ ميكرولتر من المركب المتعرف علية مضاف إلية ١٠ ميكرولتر من المركب القياسي ويحقنا معا وهنا نجد أن المنحنى الناتج منهما منحنى واحد ولكن مساحته كبيرة (لتضاعف التركيز)٠
- كما أنة قد يتم التأكيد سواء باستخدام كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة بمدلولية قيمة معدل السريان (R_f) أو باستخدام معامل التجزيئى (p-value) بتقديرها كما سبق للمركب القياسي والمركب مجال التعريف وتحت نفس الظروف ومقارنة القيمتين أو باستخدام جهاز مطياف الكتلة والذي قد يرتبط في بعض المعامل بجهاز الكروماتوجرافي الغازي (GC-MS) كما سبق ٠

والجداول التالية (٧-١٥) توضح أثاث فكرة التعريف المؤقت والمبدئي لمركب مجهول :

جدول رقم(٧-١٥):قيم وقت الحبس علي عمود 10% DC-200 :

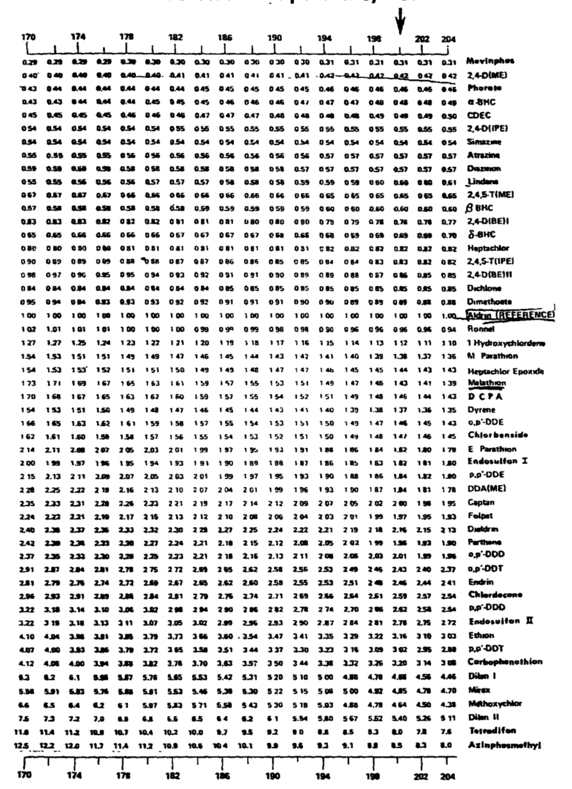


170		174		178		182		186		190		194		198		202	204	
0.16	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.19	0.20	Mevinphos
0.27	0.28	0.28	0.28	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.33	2,4-D(ME)
0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.41	Phorate
0.35	0.35	0.36	0.36	0.37	0.37	0.38	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.43	α-BHC
0.35	0.35	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.39	0.39	0.39	0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.42	CDEC
0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.43	0.43	0.43	0.44	2,4-D(IPE)
0.39	0.39	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	Simazine
0.41	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.42	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	Atrazine
0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	Diazinon
0.43	0.43	0.44	0.44	0.45	0.45	0.46	0.46	0.47	0.47	0.48	0.48	0.49	0.49	0.50	0.50	0.50	0.51	Lindane
0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	2,4,5-T(ME)
0.38	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40	0.41	0.41	0.42	0.42	0.43	0.43	0.44	0.44	0.45	0.45	0.46	0.46	β BHC
0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	2,4-D(BE)I
0.46	0.45	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	0.51	0.51	0.51	0.52	δ-BHC
0.78	0.78	0.78	0.78	0.79	0.79	0.79	0.79	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.81	0.81	0.81	0.81	0.82	Heptachlor
0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	2,4,5-T(IPE)
0.71	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	2,4-D(BE)II
0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53	Dichlone
0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	Dimethoate
1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	Aldrin (REFERENCE)
0.82	0.81	0.81	0.81	0.81	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.79	0.79	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.78	Ronnel
1.01	1.01	1.01	1.01	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.98	1 Hydroxychlordene
0.68	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	M Parathion
1.29	1.29	1.28	1.28	1.27	1.27	1.26	1.26	1.25	1.24	1.24	1.23	1.23	1.22	1.22	1.21	1.20	1.20	Heptachlor Epoxide
0.77	0.78	0.78	0.78	0.78	0.79	0.79	0.79	0.79	0.80	0.80	0.80	0.80	0.81	0.81	0.81	0.81	0.82	Malathion
1.10	1.09	1.09	1.08	1.08	1.07	1.06	1.06	1.05	1.05	1.04	1.03	1.03	1.02	1.02	1.01	1.01	1.00	D C P A
1.29	1.28	1.27	1.27	1.26	1.25	1.24	1.24	1.23	1.22	1.22	1.21	1.20	1.20	1.19	1.18	1.17	1.17	Dyrene
1.65	1.64	1.62	1.61	1.59	1.58	1.57	1.55	1.54	1.53	1.51	1.50	1.48	1.47	1.46	1.44	1.43	1.41	o,p'-DDE
1.43	1.42	1.41	1.40	1.40	1.39	1.38	1.37	1.36	1.36	1.35	1.34	1.33	1.33	1.32	1.31	1.30	1.30	Chlorbenside
1.03	1.02	1.02	1.01	1.00	1.00	0.99	0.99	0.98	0.98	0.97	0.96	0.96	0.95	0.95	0.94	0.93	0.93	E Parathion
1.64	1.63	1.62	1.61	1.61	1.60	1.59	1.58	1.58	1.57	1.56	1.55	1.54	1.54	1.53	1.52	1.51	1.50	Endosulfan I
2.09	2.07	2.05	2.02	2.00	1.98	1.96	1.94	1.92	1.90	1.88	1.86	1.83	1.81	1.79	1.77	1.75	1.73	p,p'-DDE
1.81	1.79	1.77	1.75	1.73	1.71	1.69	1.67	1.65	1.63	1.61	1.60	1.58	1.56	1.54	1.52	1.50	1.48	DDA(ME)
1.21	1.21	1.21	1.20	1.20	1.19	1.19	1.18	1.18	1.17	1.17	1.16	1.16	1.15	1.15	1.14	1.14	1.13	Captan
1.30	1.29	1.29	1.28	1.27	1.27	1.26	1.26	1.25	1.24	1.24	1.23	1.23	1.22	1.22	1.21	1.20	1.20	Folpet
1.99	1.98	1.96	1.95	1.93	1.92	1.90	1.89	1.87	1.86	1.84	1.83	1.81	1.80	1.79	1.77	1.76	1.74	Dieldrin
2.60	2.56	2.53	2.49	2.45	2.41	2.38	2.34	2.30	2.27	2.23	2.19	2.15	2.11	2.08	2.04	2.00	1.97	Perthane
2.13	2.11	2.08	2.06	2.04	2.01	1.99	1.97	1.94	1.92	1.90	1.87	1.85	1.83	1.80	1.78	1.76	1.73	o,p'-DDD
2.90	2.86	2.83	2.79	2.76	2.72	2.68	2.65	2.61	2.58	2.54	2.50	2.47	2.43	2.40	2.36	2.32	2.29	o,p'-DDT
2.22	2.20	2.19	2.17	2.16	2.14	2.13	2.11	2.09	2.08	2.06	2.05	2.03	2.01	2.00	1.98	1.97	1.95	Endrin
3.07	3.03	3.00	2.96	2.93	2.90	2.86	2.83	2.79	2.76	2.72	2.69	2.66	2.62	2.59	2.55	2.52	2.49	Chlordecone
2.72	2.69	2.66	2.62	2.59	2.56	2.52	2.49	2.45	2.42	2.39	2.36	2.32	2.29	2.25	2.22	2.19	2.15	p,p'-DDD
2.29	2.27	2.25	2.24	2.22	2.20	2.18	2.17	2.15	2.13	2.11	2.10	2.08	2.06	2.05	2.03	2.01	2.00	Endosulfan II
3.04	3.00	2.95	2.91	2.86	2.81	2.77	2.72	2.68	2.63	2.58	2.54	2.49	2.44	2.40	2.35	2.31	2.26	Ethion
3.72	3.67	3.62	3.57	3.51	3.46	3.40	3.35	3.29	3.24	3.18	3.13	3.08	3.02	2.97	2.92	2.86	2.81	p,p'-DDT
3.42	3.37	3.32	3.26	3.21	3.16	3.11	3.06	3.01	2.96	2.90	2.85	2.80	2.75	2.70	2.65	2.60	2.55	Carbophenothion
3.23	3.19	3.15	3.11	3.06	3.02	2.98	2.93	2.89	2.85	2.80	2.76	2.72	2.67	2.63	2.58	2.54	2.50	Dilan I
6.9	6.8	6.7	6.6	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0	5.90	5.80	5.69	5.59	5.48	5.38	5.28	5.17	Mirex
6.1	6.0	5.89	5.77	5.66	5.54	5.42	5.30	5.18	5.06	4.93	4.82	4.69	4.58	4.45	4.33	4.22	4.10	Methoxychlor
4.07	4.02	3.96	3.89	3.83	3.77	3.70	3.64	3.58	3.52	3.45	3.39	3.33	3.27	3.20	3.14	3.08	3.02	Dilan II
6.4	6.3	6.2	6.1	5.97	5.85	5.73	5.62	5.50	5.38	5.27	5.15	5.03	4.92	4.80	4.68	4.57	4.45	Tetradifon
6.4	6.3	6.2	6.0	5.92	5.81	5.69	5.58	5.46	5.34	5.23	5.12	5.00	4.88	4.77	4.66	4.54	4.42	Azinphosmethyl
170		174		178		182		186		190		194		198		202	204	

Retention ratios, relative to aldrin, of 48 pesticides on a column of 10% DC 200 at temperatures from 170 to 204°C; support of Chromosorb W,H.P., 80/100 mesh, electron capture detector, tritium source, parallel plate; all absolute retentions measured from injection point. Arrow indicates optimum column operating temperature with carrier flow at 120 ml per minute.

جدول رقم(٧-١٦):قيم وقت الحبس علي عمود 5% DC-200 / 7.5 % QF-1 :

5%DC-200/7.5%QF-1
Column Temperature, °C.



170		174		178		182		186		190		194		198		202	204	
0.29	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	Mevinphos
0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	2,4-D(ME)
0.43	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	Phorate
0.43	0.43	0.44	0.44	0.44	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.48	0.48	0.48	0.49	α-BHC
0.45	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.48	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.50	CDEC
0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.55	0.56	0.55	0.55	0.55	0.56	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	2,4-D(IPE)
0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	Simazine
0.55	0.55	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	Atrazine
0.59	0.58	0.60	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	Diazinon
0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	0.58	0.58	0.58	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.60	0.61	Lindane
0.67	0.67	0.67	0.67	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	2,4,5-T(ME)
0.57	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	β BHC
0.83	0.83	0.83	0.82	0.82	0.82	0.81	0.81	0.81	0.80	0.80	0.80	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.77	2,4-D(BE)I
0.65	0.65	0.66	0.66	0.66	0.66	0.67	0.67	0.67	0.67	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69	0.69	0.69	0.70	δ-BHC
0.80	0.80	0.80	0.80	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	Heptachlor
0.90	0.89	0.89	0.89	0.88	0.88	0.87	0.87	0.86	0.86	0.85	0.85	0.84	0.84	0.83	0.83	0.82	0.82	2,4,5-T(IPE)
0.98	0.97	0.96	0.95	0.95	0.94	0.93	0.92	0.91	0.91	0.90	0.89	0.89	0.88	0.87	0.86	0.85	0.85	2,4-D(BE)II
0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	Dichlone
0.95	0.94	0.94	0.93	0.93	0.93	0.92	0.92	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.89	0.89	0.89	0.88	0.88	Dimethoate
1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	Aldrin (REFERENCE)
1.02	1.01	1.01	1.01	1.00	1.00	1.00	0.99	0.99	0.99	0.98	0.98	0.90	0.96	0.96	0.96	0.96	0.94	Ronnel
1.27	1.27	1.25	1.24	1.23	1.22	1.21	1.20	1.19	1.18	1.17	1.16	1.15	1.14	1.13	1.12	1.11	1.10	1 Hydroxychlordene
1.54	1.53	1.51	1.51	1.49	1.49	1.47	1.46	1.45	1.44	1.43	1.42	1.41	1.40	1.39	1.38	1.37	1.36	M Parathion
1.54	1.53	1.53	1.52	1.51	1.51	1.50	1.49	1.49	1.48	1.47	1.47	1.46	1.45	1.45	1.44	1.43	1.43	Heptachlor Epoxide
1.73	1.71	1.69	1.67	1.65	1.63	1.61	1.59	1.57	1.55	1.53	1.51	1.49	1.47	1.46	1.43	1.41	1.39	Malathion
1.70	1.68	1.67	1.65	1.63	1.62	1.60	1.59	1.57	1.55	1.54	1.52	1.51	1.49	1.48	1.46	1.44	1.43	D C P A
1.54	1.53	1.51	1.50	1.49	1.48	1.47	1.46	1.45	1.44	1.43	1.41	1.40	1.39	1.38	1.37	1.36	1.35	Dyrene
1.66	1.65	1.63	1.62	1.61	1.59	1.58	1.57	1.55	1.54	1.53	1.51	1.50	1.49	1.47	1.46	1.45	1.43	o,p'-DDE
1.62	1.61	1.60	1.58	1.58	1.57	1.56	1.55	1.54	1.53	1.52	1.51	1.50	1.49	1.48	1.47	1.46	1.45	Chlorbenside
2.14	2.11	2.08	2.07	2.05	2.03	2.01	1.99	1.97	1.95	1.93	1.91	1.88	1.86	1.84	1.82	1.80	1.78	E Parathion
2.00	1.99	1.97	1.96	1.95	1.94	1.93	1.91	1.90	1.89	1.88	1.87	1.86	1.85	1.83	1.82	1.81	1.80	Endosulfan I
2.15	2.13	2.11	2.09	2.07	2.05	2.03	2.01	1.99	1.97	1.95	1.93	1.90	1.88	1.86	1.84	1.82	1.80	p,p'-DDE
2.28	2.25	2.22	2.19	2.16	2.13	2.10	2.07	2.04	2.01	1.99	1.96	1.93	1.90	1.87	1.84	1.81	1.78	DDA(ME)
2.35	2.33	2.31	2.28	2.26	2.23	2.21	2.19	2.17	7.14	2.12	2.09	2.07	2.05	2.02	2.00	1.98	1.95	Captan
2.24	2.22	2.21	2.19	2.17	2.15	2.13	2.12	2.10	2.08	2.06	2.04	2.03	2.01	1.99	1.97	1.95	1.93	Folpet
2.40	2.38	2.37	2.36	2.33	2.32	2.30	2.28	2.27	2.25	2.24	2.22	2.21	2.19	2.18	2.16	2.15	2.13	Dieldrin
2.42	2.39	2.36	2.33	2.30	2.27	2.24	2.21	2.18	2.15	2.12	2.08	2.05	2.02	1.99	1.96	1.93	1.90	Perthane
2.37	2.35	2.32	2.30	2.28	2.25	2.23	2.21	2.18	2.16	2.13	2.11	2.08	2.06	2.03	2.01	1.99	1.96	o,p'-DDD
2.91	2.87	2.84	2.81	2.78	2.75	2.72	2.69	2.65	2.62	2.58	2.56	2.53	2.49	2.46	2.43	2.40	2.37	o,p'-DDT
2.81	2.79	2.76	2.74	2.72	2.69	2.67	2.65	2.62	2.60	2.58	2.55	2.53	2.51	2.48	2.46	2.44	2.41	Endrin
2.96	2.93	2.91	2.89	2.88	2.84	2.81	2.79	2.76	2.74	2.71	2.69	2.66	2.64	2.61	2.59	2.57	2.54	Chlordecone
3.22	3.18	3.14	3.10	3.06	3.02	2.98	2.94	2.90	2.86	2.82	2.78	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54	p,p'-DDD
3.22	3.19	3.16	3.13	3.11	3.07	3.05	3.02	2.99	2.96	2.93	2.90	2.87	2.84	2.81	2.78	2.75	2.72	Endosulfan II
4.10	4.04	3.98	3.91	3.85	3.79	3.73	3.66	3.60	3.54	3.47	3.41	3.35	3.29	3.22	3.16	3.10	3.03	Ethion
4.07	4.00	3.93	3.86	3.79	3.72	3.65	3.58	3.51	3.44	3.37	3.30	3.23	3.16	3.09	3.02	2.95	2.88	p,p'-DDT
4.12	4.06	4.00	3.94	3.88	3.82	3.76	3.70	3.63	3.57	3.50	3.44	3.38	3.32	3.26	3.20	3.14	3.08	Carbophenothion
6.3	6.2	6.1	5.98	5.87	5.76	5.65	5.53	5.42	5.31	5.20	5.10	5.00	4.88	4.78	4.68	4.56	4.46	Dilan I
5.98	5.91	5.83	5.76	5.68	5.61	5.53	5.46	5.38	5.30	5.22	5.15	5.08	5.00	4.92	4.85	4.78	4.70	Mirex
6.6	6.5	6.4	6.2	6.1	5.97	5.83	5.71	5.58	5.43	5.30	5.18	5.03	4.88	4.78	4.64	4.50	4.38	Methoxychlor
7.6	7.3	7.2	7.0	6.9	6.8	6.6	6.5	6.4	6.2	6.1	5.94	5.80	5.67	5.52	5.40	5.26	5.11	Dilan II
11.6	11.4	11.2	10.9	10.7	10.4	10.2	10.0	9.7	9.5	9.2	9.0	8.8	8.5	8.3	8.0	7.8	7.6	Tetradifon
12.5	12.2	12.0	11.7	11.4	11.2	10.9	10.6	10.4	10.1	9.9	9.6	9.3	9.1	8.8	8.5	8.3	8.0	Azinphosmethyl

Retention ratios, relative to aldrin, of 48 pesticides on a column of 5% DC-200/7.5%QF-1 at temperatures from 170 to 204°C; support of Chromosorb W,H.P., 80/100 mesh; electron capture detector, tritium source, parallel plate; all absolute retentions measured from injection point. Arrow indicates optimum column operating temperature with carrier flow at 120 ml per minute.

جدول رقم(٧-١٧):قيم وقت الحبس علي عمود 4% SE-30 / 6%OV-210:

4% SE-30/6% OV - 210

Column Temperature, °C.

	174		178		182		186		190		194		198		202	204	
0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.09	0.09	0.09	0.09	Dichlorvos
0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	TEPP
0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	Mevinphos
0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.21	Demeton Thiono
0.16	0.16	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	0.23	Thionazin
0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	Ethoprop
0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	Phorate
0.22	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27	Sulfotepp
0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27	0.27	0.28	Naled
0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.28	0.29	Oxydemeton Methyl
0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.28	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	Diazinon
0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	Dioxathion
0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	Demeton Thiolo
0.31	0.31	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	Disulfoton
0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	Diazoxon
0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.43	0.43	0.43	0.44	0.44	0.44	0.45	0.45	0.45	Dichlofenthion
0.46	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.48	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	Dimethoate
0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	0.50	0.50	0.51	0.51	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	Ronnel
0.51	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	0.52	0.53	0.53	0.53	0.54	0.54	0.54	0.54	0.55	0.55	0.55	Cyanox
0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	0.58	0.58	0.58	0.58	0.59	0.59	0.59	0.59	Ronnoxon
0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	Monocrotophos
0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.61	0.61	0.61	0.62	0.62	0.62	0.62	Chlorpyrifos
0.58	0.58	0.58	0.59	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.60	0.61	0.61	0.61	0.61	0.62	0.62	0.62	Zytron
0.62	0.62	0.62	0.63	0.63	0.63	0.63	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.65	0.65	0.65	Fenthion
0.67	0.67	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.70	0.70	0.70	0.70	Malaoxon
0.72	0.72	0.73	0.73	0.73	0.73	0.74	0.74	0.74	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.76	0.76	Methyl Parathion
0.81	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	Malathion
0.86	0.85	0.85	0.85	0.85	0.84	0.84	0.84	0.84	0.85	0.85	0.85	0.85	0.86	0.86	0.86	0.86	Fenitrothion
0.94	0.93	0.93	0.93	0.92	0.92	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.89	0.89	0.88	0.88	0.88	0.87	Bromophos
0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	Methyl Paraoxon
0.93	0.93	0.93	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.91	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	Phenthoate
0.91	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	Bromophos Ethyl
[illegible]	0.84	0.84	0.83	0.83	0.83	0.82	0.82	0.83	0.84	0.86	0.87	0.88	0.89	0.90	0.92	0.93	Schradan
[illegible]	0.96	0.96	0.96	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	Dicapthon
1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	E. Parathion
[illegible]	1.02	1.01	1.01	1.01	1.01	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	Amidithion
1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	Iodofenphos
1.11	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.09	1.09	1.09	1.09	1.09	1.09	1.09	1.08	Crufomate
1.18	1.17	1.17	1.17	1.16	1.16	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.13	1.13	1.13	1.12	1.12	1.11	DEF
1.18	1.18	1.17	1.17	1.17	1.16	1.16	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.13	1.13	1.12	1.12	1.12	Phosphamidon
1.17	1.17	1.17	1.17	1.16	1.16	1.16	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.13	1.13	1.13	1.12	Folex
1.24	1.24	1.23	1.23	1.22	1.22	1.21	1.21	1.20	1.20	1.19	1.19	1.18	1.18	1.17	1.17	1.16	Ethyl Paraoxon
1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	1.21	1.21	1.21	1.21	1.20	1.20	1.20	1.20	1.19	1.19	1.19	1.19	Methidathion
[illegible]	1.36	1.35	1.35	1.34	1.33	1.33	1.32	1.32	1.31	1.31	1.30	1.30	1.29	1.29	1.28	1.28	Tetrachlorvinphos
[illegible]	1.84	1.83	1.82	1.81	1.80	1.78	1.77	1.76	1.75	1.74	1.73	1.72	1.70	1.69	1.68	1.67	Ethion
1.88	1.87	1.86	1.85	1.84	1.83	1.82	1.80	1.79	1.78	1.77	1.76	1.75	1.74	1.73	1.72	1.71	Carbophenoxon
1.89	1.87	1.85	1.85	1.84	1.83	1.82	1.80	1.79	1.78	1.77	1.76	1.75	1.74	1.73	1.72	1.71	Carbophenothion
3.15	3.12	3.09	3.06	3.03	3.00	2.98	2.95	2.92	2.89	2.86	2.83	2.80	2.77	2.74	2.72	2.69	Phenkapton
3.92	3.87	3.83	3.79	3.75	3.70	3.66	3.62	3.58	3.53	3.49	3.44	3.41	3.36	3.32	3.28	3.23	Fensulfothion
4.60	4.55	4.50	4.45	4.40	4.35	4.31	4.26	4.21	4.16	4.11	4.06	4.01	3.96	3.91	3.87	3.82	Imidan
[illegible]	4.56	4.51	4.46	4.41	4.36	4.31	4.26	4.21	4.16	4.11	4.06	4.00	3.95	3.90	3.85	3.80	EPN
[illegible]	5.59	5.55	5.51	5.47	5.42	5.38	5.34	5.30	5.26	5.21	5.17	5.13	5.09	5.05	5.01	4.96	Famphur
[illegible]	7.27	7.17	7.06	6.96	6.85	6.75	6.64	6.54	6.43	6.33	6.22	6.12	6.01	5.91	5.80	5.70	Azinphos Ethyl
[illegible]	7.32	7.21	7.10	6.99	6.89	6.78	6.67	6.57	6.46	6.35	6.24	6.14	6.03	5.92	5.81	5.71	Azinphos Methyl
[illegible]	16.7	16.3	16.0	15.6	15.3	15.0	14.6	14.3	13.9	13.6	13.2	12.9	12.6	12.2	11.9	11.5	Coumaphos
	174		178		182		186		190		194		198		202	204	

Retention ratios, relative to parathion, of 54 organophosphorous pesticides on a column of 4% SE-30/6% OV-210 at temperatures from 170 to 204°C; support of Gas Chrom-Q, 80/100 mesh; flame photometric detector, 5260 A° filter, all absolute retentions measured from injection

جدول رقم(٧-١٨):قيم وقت الحبس علي عمود 4 % SE-30 / 6%OV-210:

4 % SE-30/6% OV - 210

Column Temperature , °C.

	174		178		182		186		190		194		198	↓	202	204	
0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.09	0.09	0.09	0.09	Dichlorvos
0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	TEPP
0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	Mevinphos
0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.21	Demeton Thione
0.16	0.16	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	0.23	Thionazin
0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	Ethoprop
0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	Phorate
0.22	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27	Sulfotepp
0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27	0.27	0.28	Naled
0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.28	0.29	Oxydemeton Methyl
0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.28	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	Diazinon
0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	Dioxathion
0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	Demeton Thiolo
0.31	0.31	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	Disulfoton
0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	Diazoxon
0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.43	0.43	0.43	0.44	0.44	0.44	0.45	0.45	0.45	Dichlofenthion
0.46	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.48	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	Dimethoate
0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	0.50	0.50	0.51	0.51	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	Ronnel
0.51	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	0.52	0.53	0.53	0.53	0.54	0.54	0.54	0.54	0.55	0.55	0.55	Cyanox
0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	0.58	0.58	0.58	0.58	0.59	0.59	0.59	0.59	Ronnoxon
0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	Monocrotophos
0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.61	0.61	0.61	0.62	0.62	0.62	0.62	Chlorpyrifos
0.58	0.58	0.58	0.59	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.60	0.61	0.61	0.61	0.61	0.62	0.62	0.62	Zytron
0.62	0.62	0.62	0.63	0.63	0.63	0.63	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.65	0.65	0.65	Fenthion
0.67	0.67	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.70	0.70	0.70	0.70	Malaoxon
0.72	0.72	0.73	0.73	0.73	0.73	0.74	0.74	0.74	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.76	0.76	Methyl Parathion
0.81	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	Malathion
0.86	0.85	0.85	0.85	0.85	0.84	0.84	0.84	0.84	0.85	0.85	0.85	0.85	0.86	0.86	0.86	0.86	Fenitrothion
0.94	0.93	0.93	0.93	0.92	0.92	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.89	0.89	0.88	0.88	0.88	0.87	Bromophos
0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	Methyl Paraoxon
0.93	0.93	0.93	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.91	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	Phenthoate
0.91	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	Bromophos Ethyl
[illegible]	0.84	0.84	0.83	0.83	0.82	0.82	0.82	0.83	0.84	0.86	0.87	0.88	0.89	0.90	0.92	0.93	Schradan
[illegible]	0.96	[illegible]	0.96	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	Dicapthon
1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	E. Parathion
[illegible]	1.02	1.01	1.01	1.01	1.01	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	Amidithion
[illegible]	1.02	1.02	1.02	1.02	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	Iodofenphos
.11	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.09	1.09	1.09	1.09	1.09	1.09	1.09	1.08	Crufomate
[illegible]	1.17	1.17	1.17	1.16	1.16	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.13	1.13	1.13	1.12	1.12	1.11	DEF
.18	1.18	1.17	1.17	1.17	1.16	1.16	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.13	1.13	1.12	1.12	1.12	Phosphamidon
.17	1.17	1.17	1.17	1.16	1.16	1.16	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.13	1.13	1.13	1.12	Folex
.24	1.24	1.23	1.23	1.22	1.22	1.21	1.21	1.20	1.20	1.19	1.19	1.18	1.18	1.17	1.17	1.16	Ethyl Paraoxon
.22	1.22	1.22	1.22	1.22	1.21	1.21	1.21	1.21	1.20	1.20	1.20	1.20	1.19	1.19	1.19	1.19	Methidathion
.36	1.36	1.35	1.35	1.34	1.33	1.33	1.32	1.32	1.31	1.31	1.30	1.30	1.29	1.29	1.28	1.28	Tetrachlorvinphos
.85	1.84	1.83	1.82	1.81	1.80	1.76	1.77	1.76	1.75	1.74	1.73	1.72	1.70	1.69	1.68	1.67	Ethion
.88	1.87	1.86	1.85	1.84	1.83	1.62	1.80	1.79	1.78	1.77	1.76	1.75	1.74	1.73	1.72	1.71	Carbophenoxon
.88	1.87	1.85	1.85	1.84	1.83	1.82	1.80	1.79	1.78	1.77	1.76	1.75	1.74	1.73	1.72	1.71	Carbophenothion
.15	3.12	3.09	3.06	3.03	3.00	2.98	2.95	2.92	2.89	2.86	2.83	2.80	2.77	2.74	2.72	2.69	Phenkapton
[illegible]	3.87	3.93	3.79	3.75	3.70	3.66	3.62	3.58	3.53	3.49	3.44	3.41	3.36	3.32	3.28	3.23	Fensulfothion
.60	4.55	4.50	4.45	4.40	4.35	4.31	4.26	4.21	4.16	4.11	4.06	4.01	3.96	3.91	3.87	3.82	Imidan
[illegible]	4.56	4.51	4.46	4.41	4.36	4.31	4.26	4.21	4.16	4.11	4.06	4.00	3.95	3.90	3.85	3.80	EPN
.63	5.55	5.55	5.51	5.47	5.42	5.38	5.34	5.30	5.26	5.21	5.17	5.13	5.09	5.05	5.01	4.96	Famphur
.32	7.27	7.17	7.06	6.96	6.85	6.75	6.64	6.54	6.43	6.33	6.22	6.12	6.01	5.91	5.80	5.70	Azinphos Ethyl
.47	7.32	7.21	7.10	6.99	6.89	6.78	6.67	6.57	6.46	6.35	6.24	6.14	6.03	5.92	5.81	5.71	Azinphos Methyl
[illegible]	16.7	16.3	16.0	15.6	15.3	15.0	14.6	14.3	13.9	13.6	13.2	12.9	12.6	12.2	11.9	11.5	Coumaphos
	174		178		182		186		190		194		198		202	204	

Retention ratios, relative to parathion, of 54 organophosphorous pesticides on a column of 4% SE-30/6% OV-210 at temperatures from 170 to 204°C; support of Gas Chrom-Q, 80/100 mesh; flame photometric detector, 5260 A° filter; all absolute retentions measured from injection

جدول رقم(٧-١٩):قيم وقت الحبس علي عمود 5% OV-210:

5% OV-210

Column Temperature, °C.

170		174		178	↓	182		186		190		194		198		202	204	Compound
43	43	44	.44	.45	.45	.46	.46	.47	.47	.48	.49	.49	.50	.50	.51	.51	.52	Hexachlorobenzene
51	51	51	.51	.51	.52	.52	.52	.52	.52	.53	.53	.53	.53	.53	.53	.54	.54	Dimethyl Phthalate
52	52	.53	.53	.54	.54	.55	.55	.56	.56	.57	.58	.58	.59	.59	.60	.60	.61	Tecnazene
58	.58	.59	.59	.60	.60	.61	.61	.62	.62	.62	.63	.63	.64	.64	.65	.65	.66	Chlordene
.62	.62	.62	.63	.63	.64	.64	.65	.65	.65	.66	.66	.67	.67	.68	.68	.68	.69	α-BHC
.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	Mevinphos
.65	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	2,4-D (ME)
67	69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.70	.70	.70	.70	.70	.70	.70	.70	.70	CDEC
.74	.74	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.72	.72	.72	.72	.72	.72	.72	.72	.71	Diethyl Phthalate
.76	.75	.75	.75	.75	.75	.75	.74	.74	.74	.74	.74	.74	.73	.73	.73	.73	.73	Diazinon
.80	.80	.80	.80	.80	.81	.81	.81	.81	.82	.82	.82	.82	.83	.83	.83	.83	.84	Lindane
.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	PCNB
87	.87	.87	.87	.87	.87	.87	.87	.87	.87	.88	.88	.88	.88	.88	.88	.88	.88	Heptachlor
85	.87	.87	.87	.86	.86	.86	.85	.85	.85	.85	.84	.84	.84	.83	.83	.83	.82	2,4-D (IPE)
97	97	96	.96	.96	.96	.96	.95	.95	.95	.95	.95	.95	.94	.94	.94	.94	.94	β-BHC
1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	Aldrin (REFERENCE)
.05	1.08	1.07	1.07	1.06	1.05	1.05	1.04	1.03	1.03	1.02	1.01	1.01	1.00	1.00	.99	.98	.96	2,4,5-T (ME)
36	1.34	1.33	1.32	1.30	1.29	1.27	1.26	1.25	1.23	1.22	1.20	1.19	1.18	1.16	1.15	1.14	1.12	2,4,5-T (IPE)
41	1.40	1.39	1.38	1.37	1.36	1.35	1.34	1.33	1.32	1.31	1.30	1.29	1.28	1.27	1.26	1.25	1.24	Ronnel
.43	1.42	1.41	1.40	1.39	1.38	1.38	1.37	1.36	1.35	1.34	1.33	1.33	1.32	1.31	1.30	1.29	1.28	1-Hydroxychlordene
60	1.59	1.58	1.57	1.56	1.55	1.54	1.53	1.53	1.52	1.51	1.50	1.49	1.48	1.47	1.46	1.45	1.44	Oxychlordane
67	1.65	1.63	1.62	1.60	1.59	1.57	1.55	1.53	1.52	1.50	1.49	1.47	1.45	1.43	1.42	1.40	1.39	o,p'-DDE
1.90	1.89	1.87	1.85	1.84	1.82	1.80	1.79	1.77	1.76	1.74	1.72	1.71	1.69	1.67	1.66	1.64	1.62	Chlordane, Gamma
1.88	1.86	1.85	1.83	1.82	1.80	1.78	1.77	1.75	1.74	1.72	1.70	1.69	1.67	1.66	1.64	1.62	1.61	Trans-Nonachlor
2.02	2.00	1.98	1.97	1.95	1.93	1.91	1.89	1.87	1.85	1.83	1.81	1.79	1.77	1.75	1.73	1.71	1.69	Heptachlor Epoxide
2.08	2.06	2.04	2.02	2.00	1.98	1.97	1.95	1.93	1.91	1.89	1.87	1.85	1.83	1.81	1.79	1.77	1.75	Chlordane, Alpha
2.18	2.15	2.12	2.09	2.06	2.04	2.01	1.98	1.95	1.92	1.89	1.86	1.83	1.80	1.78	1.75	1.72	1.69	Dimethoate
24	2.21	2.18	2.15	2.12	2.10	2.07	2.04	2.01	1.98	1.95	1.92	1.90	1.87	1.84	1.81	1.78	1.75	p,p'-DDE
29	2.25	2.22	2.18	2.14	2.10	2.07	2.03	1.99	1.95	1.92	1.88	1.84	1.80	1.77	1.73	1.69	1.66	Dibutyl Phthalate
2.63	2.60	2.57	2.54	2.51	2.48	2.45	2.42	2.39	2.36	2.33	2.30	2.27	2.24	2.21	2.18	2.15	2.12	Endosulfan I
[illegible]	2.70	2.67	2.63	2.59	2.55	2.51	2.47	2.43	2.39	2.35	2.31	2.27	2.23	2.19	2.15	2.11	2.07	o,p'-DDD
[illegible]	2.73	2.70	2.67	2.64	2.61	2.58	2.55	2.52	2.49	2.46	2.43	2.40	2.37	2.34	2.31	2.28	2.25	Chlordecone
[illegible]	2.80	2.75	2.71	2.67	2.63	2.59	2.54	2.50	2.46	2.41	2.37	2.33	2.29	2.24	2.20	2.16	2.12	DCPA
92	2.87	2.83	2.79	2.74	2.70	2.65	2.61	2.57	2.52	2.48	2.43	2.39	2.35	2.30	2.26	2.21	2.17	o,p'-DDT
10	3.05	3.00	2.94	2.89	2.84	2.79	2.74	2.69	2.64	2.59	2.54	2.48	2.43	2.38	2.33	2.28	2.23	DDA (ME)
17	3.12	3.07	3.02	2.97	2.92	2.88	2.83	2.78	2.73	2.68	2.63	2.58	2.54	2.49	2.44	2.39	2.34	M. Parathion
20	3.14	3.08	3.02	2.96	2.91	2.85	2.79	2.73	2.67	2.61	2.55	2.49	2.44	2.38	2.32	2.26	2.20	Malathion
21	3.17	3.13	3.09	3.04	3.00	2.96	2.92	2.88	2.83	2.79	2.75	2.71	2.68	2.62	2.58	2.54	2.49	Dieldrin
82	3.77	3.72	3.67	3.61	3.56	3.50	3.45	3.39	3.34	3.28	3.23	3.18	3.13	3.07	3.02	2.96	2.91	Endrin
.06	4.01	3.95	3.89	3.84	3.78	3.73	3.68	3.62	3.57	3.52	3.46	3.40	3.35	3.29	3.24	3.19	3.13	Mirex
10	4.03	3.96	3.89	3.82	3.75	3.68	3.61	3.53	3.46	3.38	3.32	3.25	3.18	3.11	3.03	2.96	2.89	p,p'-DDD
[illegible]	4.17	4.09	4.02	3.94	3.87	3.78	3.71	3.63	3.56	3.48	3.40	3.33	3.25	3.17	3.10	3.03	2.95	E. Parathion
[illegible]	4.39	4.31	4.23	4.15	4.07	3.98	3.90	3.82	3.74	3.66	3.58	3.49	3.41	3.33	3.25	3.17	3.09	p,p'-DDT
5.52	4.91	4.83	4.75	4.67	4.59	4.51	4.43	4.35	4.27	4.19	4.11	4.03	3.95	3.87	3.79	3.71	3.63	Endosulfan II
.25	5.19	5.09	4.99	4.89	4.78	4.68	4.58	4.48	4.37	4.27	4.17	4.06	4.96	3.86	3.76	3.66	3.56	Carbophenothion
99	5.89	5.76	5.64	5.51	5.37	5.25	5.12	4.99	4.86	4.73	4.60	4.48	4.35	4.22	4.09	3.96	3.83	Ethion
[illegible]	7.2	7.0	6.8	6.7	6.5	6.3	6.1	5.94	5.76	5.59	5.41	5.23	5.06	4.88	4.70	4.53	4.35	Methoxychlor
13.2	13.0	12.7	12.4	12.1	11.8	11.5	11.2	11.0	10.7	10.4	10.1	9.8	9.5	9.2	9.0	8.7	8.4	Endrin Ketone "153"
13.5	13.1	12.6	12.2	11.8	11.4	11.0	10.6	10.1	9.7	9.3	8.9	8.5	8.0	7.6	7.2	6.8	6.4	Dioctyl Phthalate
21.4	20.8	20.1	19.5	18.8	18.2	17.5	16.9	16.2	15.6	14.9	14.3	13.6	13.0	12.3	11.6	11.0	10.3	Diphenyl Phthalate
21.1	20.6	20.0	19.5	18.9	18.4	17.9	17.3	16.7	16.2	15.6	15.1	14.5	14.0	13.4	12.9	12.3	11.8	Tetradifon

170 174 178 182 186 190 194 198 202 204

Retention ratios, relative to aldrin, of 47 compounds at temperature from 170 to 204°C; support of gas Chrom Q, 80/100 mesh; electron capture detector; ^{63}Ni source; all absolute retentions measured from injection point. Arrow indicated optimum column operating temperature with carrier flow at 50 ml per min.

جدول رقم(٧-٢٠):قيم وقت الحبس علي عمود 5%OV-210:

5 % OV-210

Column Temperature, °C.

170		174		178	↓	182		186		190		194		198		202	204	Compound
43	43	.44	.44	.45	.45	.46	.46	.47	.47	.48	.49	.49	.50	.50	.51	.51	.52	Hexachlorobenzene
51	.51	51	.51	.51	.52	.52	.52	.52	.52	.53	.53	.53	.53	.53	.53	.54	.54	Dimethyl Phthalate
52	.52	.53	.53	.54	.54	.55	.55	.56	.56	.57	.58	.58	.59	.59	.60	.60	.61	Tecnazene
58	.58	.59	.59	.60	.60	.61	.61	.62	.62	.62	.63	.63	.64	.64	.65	.65	.66	Chlordene
62	62	.62	.63	.63	.64	.64	.65	.65	.65	.66	.66	.67	.67	.68	.68	.68	.69	α-BHC
66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	.66	Mevinphos
69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	2,4-D (ME)
[illegible]	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.69	.70	.70	.70	.70	.70	.70	.70	.70	.70	CDEC
74	.74	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.73	.72	.72	.72	.72	.72	.72	.72	.72	.71	Diethyl Phthalate
[illegible]	75	.75	.75	.75	.75	.75	.74	.74	.74	.74	.74	.74	.73	.73	.73	.73	.73	Diazinon
80	.80	.80	.80	.80	.81	.81	.81	.81	.82	.82	.82	.82	.83	.83	.83	.83	.84	Lindane
.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	.86	PCNB
[illegible]	.87	.87	.87	.87	.87	.87	.87	.87	.87	.88	.88	.88	.88	.88	.88	.88	.88	Heptachlor
[illegible]	87	.87	.87	.86	.86	.86	.85	.85	.85	.85	.84	.84	.84	.83	.83	.83	.82	2,4-D (IPE)
97	.97	.96	.96	.96	.96	.96	.95	.95	.95	.95	.95	.95	.94	.94	.94	.94	.94	β-BHC
1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	Aldrin (REFERENCE)
[illegible]	1.08	1.07	1.07	1.06	1.05	1.05	1.04	1.03	1.03	1.02	1.01	1.01	1.00	1.00	.99	.98	.96	2,4,5-T (ME)
[illegible]	1.34	1.33	1.32	1.30	1.29	1.27	1.26	1.25	1.23	1.22	1.20	1.19	1.18	1.16	1.15	1.14	1.12	2,4,5-T (IPE)
[illegible]	1.40	1.39	1.38	1.37	1.36	1.35	1.34	1.33	1.32	1.31	1.30	1.29	1.28	1.27	1.26	1.25	1.24	Ronnel
[illegible]	1.42	1.41	1.40	1.39	1.38	1.38	1.37	1.36	1.35	1.34	1.33	1.33	1.32	1.31	1.30	1.29	1.28	1-Hydroxychlordene
[illegible]	1.59	1.58	1.57	1.56	1.55	1.54	1.53	1.53	1.52	1.51	1.50	1.49	1.48	1.47	1.46	1.45	1.44	Oxychlordane
[illegible]	1.65	[illegible]	1.62	1.60	1.59	1.57	1.55	1.53	1.52	1.50	1.49	1.47	1.45	1.43	1.42	1.40	1.39	o,p'-DDE
1.90	1.89	1.87	1.85	1.84	1.82	1.80	1.79	1.77	1.76	1.74	1.72	1.71	1.69	1.67	1.66	1.64	1.62	Chlordane, Gamma
[illegible]	1.86	1.85	1.83	1.82	1.80	1.78	1.77	1.75	1.74	1.72	1.70	1.69	1.67	1.66	1.64	1.62	1.61	Trans-Nonachlor
2.02	2.00	[illegible]	1.97	1.95	1.93	1.91	1.89	1.87	1.85	1.83	1.81	1.79	1.77	1.75	1.73	1.71	1.69	Heptachlor Epoxide
2.08	2.06	2.04	2.02	2.00	1.98	1.97	1.95	1.93	1.91	1.89	1.87	1.85	1.83	1.81	1.79	1.77	1.75	Chlordane, Alpha
[illegible]	2.15	2.12	2.09	2.06	2.04	2.01	1.98	1.95	1.92	1.89	1.86	1.83	1.80	1.78	1.75	1.72	1.69	Dimethoate
[illegible]	2.21	2.18	2.15	2.12	2.10	2.07	2.04	2.01	1.98	1.95	1.92	1.90	1.87	1.84	1.81	1.78	1.75	p,p'-DDE
[illegible]	2.25	2.22	2.18	2.14	2.10	2.07	2.03	1.99	1.95	1.92	1.88	1.84	1.80	1.77	1.73	1.69	1.66	Dibutyl Phthalate
[illegible]	2.60	2.57	2.54	2.51	2.48	2.45	2.42	2.39	2.36	2.33	2.30	2.27	2.24	2.21	2.18	2.15	2.12	Endosulfan I
[illegible]	2.70	2.67	2.63	2.59	2.55	2.51	2.47	2.43	2.39	2.35	2.31	2.27	2.23	2.19	2.15	2.11	2.07	o,p'-DDD
[illegible]	2.73	2.70	2.67	2.64	2.61	2.56	2.55	2.52	2.49	2.46	2.43	2.40	2.37	2.34	2.31	2.28	2.25	Chlordecone
[illegible]	2.80	2.75	2.71	2.67	2.63	2.59	2.54	2.50	2.46	2.41	2.37	2.33	2.29	2.24	2.20	2.16	2.12	DCPA
[illegible]	2.87	2.83	2.79	2.74	2.70	2.65	2.61	2.57	2.52	2.48	2.43	2.39	2.35	2.30	2.26	2.21	2.17	o,p'-DDT
[illegible]	3.05	3.00	2.94	2.89	2.84	2.79	2.74	2.69	2.64	2.59	2.54	2.48	2.43	2.38	2.33	2.28	2.23	DDA (ME)
[illegible]	3.12	3.07	3.02	2.97	2.92	2.88	2.83	2.78	2.73	2.68	2.63	2.58	2.54	2.49	2.44	2.39	2.34	M. Parathion
[illegible]	3.14	3.08	3.02	2.96	2.91	2.85	2.79	2.73	2.67	2.61	2.55	2.49	2.44	2.38	2.32	2.26	2.20	Malathion
[illegible]	3.17	3.13	3.09	3.04	3.00	2.96	2.92	2.88	2.83	2.79	2.75	2.71	2.68	2.62	2.58	2.54	2.49	Dieldrin
[illegible]	3.77	3.72	3.67	3.61	3.56	3.50	3.45	3.39	3.34	3.28	3.23	3.18	3.13	3.07	3.02	2.96	2.91	Endrin
[illegible]	4.01	3.95	3.89	3.84	3.78	3.73	3.68	3.62	3.57	3.52	3.46	3.40	3.35	3.29	3.24	3.19	3.13	Mirex
[illegible]	4.03	3.96	3.89	3.82	3.75	3.68	3.61	3.53	3.46	3.38	3.32	3.25	3.18	3.11	3.03	2.96	2.89	p,p'-DDD
[illegible]	4.17	4.09	4.02	3.94	3.87	3.78	3.71	3.63	3.56	3.48	3.40	3.33	3.25	3.17	3.10	3.03	2.95	E. Parathion
[illegible]	4.39	4.31	4.23	4.15	4.07	3.98	3.90	3.82	3.74	3.66	3.58	3.49	3.41	3.33	3.25	3.17	3.09	p,p'-DDT
[illegible]	4.91	4.83	4.75	4.67	4.59	4.51	4.43	4.35	4.27	4.19	4.11	4.03	3.95	3.87	3.79	3.71	3.63	Endosulfan II
[illegible]	5.19	5.05	4.99	4.89	4.78	4.68	4.58	4.48	4.37	4.27	4.17	4.06	4.96	3.86	3.76	3.66	3.56	Carbophenothion
[illegible]	5.89	5.76	5.64	5.51	5.37	5.25	5.12	4.99	4.86	4.73	4.60	4.48	4.35	4.22	4.09	3.96	3.83	Ethion
[illegible]	[illegible]	[illegible]	6.8	6.7	6.5	6.3	6.1	5.94	5.76	5.59	5.41	5.23	5.06	4.88	4.70	4.53	4.35	Methoxychlor
[illegible]	13.0	12.7	12.4	12.1	11.8	11.5	11.2	11.0	10.7	10.4	10.1	9.8	9.5	9.2	9.0	8.7	8.4	Endrin Ketone "153"
13.5	13.1	12.6	12.2	11.8	11.4	11.0	10.6	10.1	9.7	9.3	8.9	8.5	8.0	7.6	7.2	6.8	6.4	Dioctyl Phthalate
21.4	20.8	20.1	19.5	18.8	18.2	17.5	16.9	16.2	15.6	14.9	14.3	13.6	13.0	12.3	11.6	11.0	10.3	Diphenyl Phthalate
[illegible]	20.6	20.0	19.5	18.9	18.4	17.9	17.3	16.7	16.2	15.6	15.1	14.5	14.0	13.4	12.9	12.3	11.8	Tetradifon
170		174		178		182		186		190		194		198		202	204	

Retention rations, relative to aldrin, of 47 compounds at temperature from 170 to 204°C. support of gas Chrom Q, 80/100 mesh; electron capture detector 63Ni source, all absolute retentions measured from injection point. Arrow indicated optimum column operating temperature with carrier flow at 50 ml per min.

جدول رقم(٧–٢١):قيم وقت الحبس علي عمود 10 %OV-210:

10 % OV-210

Column Temperature , °C.

170		174		178		182		186		190		194		198	↓	202	204	
0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	TEPP
0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.09	0.09	0.09	0.09	Dichlorvos
0.12	0.12	0.12	0.12	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	Demeton Thiono
0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.19	Mevinphos
0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.19	Thionazin
0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.20	0.21	Phorate
0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	Ethoprop
0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.21	Diazinon
0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	Sulfotepp
0.19	0.19	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.26	Naled
0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	Oxydemeton Methyl
0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27	0.28	0.2[illegible]	Disulfoton
0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.31	Dioxathion
0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	Demeton thiolo
0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.35	Dichlofenthion
0.33	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.3[illegible]	Diazoxon
0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.3[illegible]	0.39	0.39	0.40	Ronnel
0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.4[illegible]	Chlorpyrifos
0.43	0.43	0.43	0.44	0.44	0.44	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47	0.4[illegible]	Cytron
0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.48	0.48	0.49	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	Bromophos
0.48	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.51	0.51	0.51	0.51	Fenthion
0.47	0.47	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	0.51	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	0.53	0.53	Dimethoate
0.51	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	0.53	0.53	0.53	0.53	0.54	0.54	0.54	0.54	0.55	0.55	0.55	0.55	Ronnoxon
0.53	0.53	0.54	0.54	0.54	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	0.58	0.58	0.58	0.59	0.59	Cyanox
0.59	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	Bromophos ethyl
0.67	0.67	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.63	Monocrotophos
0.75	0.75	0.75	0.74	0.74	0.73	0.73	0.73	0.72	0.72	0.71	0.71	0.71	0.70	0.70	0.70	0.69	0.69	Malathion
0.69	0.69	0.69	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	Iodofenphos
0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.74	DEF
0.75	0.75	0.75	0.75	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	Phenthoate
0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	Folex
0.74	0.74	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.76	0.76	0.77	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78	0.78	0.7[illegible]	Methyl parathion
0.81	0.81	0.81	0.81	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	Schradan
0.84	0.84	0.84	0.84	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	Fenitrothion
1.02	1.01	1.01	1.00	0.99	0.99	0.98	0.97	0.96	0.96	0.95	0.94	0.94	0.93	0.92	0.92	0.91	0.9[illegible]	Malaoxon
0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.9[illegible]	Dicapthon
1.02	1.02	1.02	1.01	1.01	1.00	1.00	1.00	0.99	0.99	0.99	0.98	0.98	0.98	0.97	0.97	0.97	0.96	Crufomate
1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	Parathion (Reference)
1.04	1.03	1.03	1.03	1.03	1.02	1.02	1.02	1.02	1.01	1.01	1.01	1.01	1.00	1.00	1.00	1.00	0.9[illegible]	Methyl paraoxon
1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.0[illegible]	Amidithion
1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	Methidathion
1.22	1.22	1.21	1.20	1.20	1.19	1.19	1.18	1.18	1.17	1.17	1.16	1.16	1.15	1.15	1.14	1.13	1.12	Tetrachlorvinphos
1.27	1.27	1.26	1.26	1.25	1.25	1.24	1.24	1.24	1.23	1.23	1.22	1.22	1.21	1.21	1.20	1.20	1.19	Carbophenothion
1.38	1.37	1.36	1.36	1.35	1.34	1.33	1.32	1.31	1.31	1.30	1.29	1.28	1.27	1.26	1.26	1.25	1.24	Phosphamidon
1.42	1.41	1.40	1.39	1.38	1.37	1.37	1.36	1.35	1.34	1.33	1.32	1.32	1.31	1.30	1.29	1.28	1.27	Ethyl paraoxon
1.43	1.43	1.42	1.41	1.40	1.39	1.38	1.37	1.37	1.36	1.35	1.34	1.33	1.32	1.31	1.31	1.30	1.29	Ethion
1.64	1.63	1.62	1.62	1.61	1.60	1.59	1.58	1.57	1.56	1.55	1.54	1.53	1.53	1.52	1.51	1.50	1.49	Carbophenoxon
2.09	2.08	2.06	2.04	2.02	2.00	1.98	1.95	1.94	1.92	1.90	1.88	1.86	1.84	1.82	1.80	1.79	1.77	Phenkapton
4.26	4.21	4.16	4.11	4.06	4.01	3.97	3.92	3.87	3.82	3.77	3.72	3.68	3.63	3.58	3.53	3.48	3.43	Fensulfothion
4.37	4.32	4.27	4.22	4.18	4.13	4.08	4.03	3.98	3.93	3.88	3.83	3.78	3.73	3.68	3.63	3.58	3.53	EPN
4.65	4.59	4.54	4.48	4.43	4.37	4.32	4.26	4.21	4.15	4.10	4.04	3.99	3.94	3.88	3.86	3.77	3.72	Imidan
6.98	6.88	6.77	6.66	6.55	6.44	6.33	6.22	6.11	6.00	5.89	5.78	5.67	5.56	5.45	5.34	5.24	5.13	Azinphos methyl
6.86	6.76	6.66	6.56	6.47	6.37	6.27	6.17	6.08	5.98	5.88	5.79	5.69	5.59	5.49	5.40	5.30	5.20	Famphur
7.01	5.90	6.79	6.69	6.58	6.47	6.36	6.25	6.14	6.03	5.92	5.81	5.70	5.59	5.48	5.37	5.26	5.15	Azinphos ethyl
19.1	18.7	18.3	17.9	17.5	17.1	16.7	16.3	15.9	15.5	15.1	14.7	14.3	13.9	13.5	13.1	12.7	12.3	Coumaphos
170		174		178		182		186		190		194		198		202	204	

Retention ratios, relative to ethyl parathion, of 54 organophosphorous pesticides on a column of 10% OV-210 at temperatures from 170 to 204°C; support of Gas Chrom Q, 100/120 mesh; flame photometric detector, 5260 A° filter; all absolute retentions measured from injection point. Arrow indicates optimum column operating temperature with carrier flow at 70 ml per minute.

جدول رقم(٧-٢٢):قيم وقت الحبس علي عمود 1.5% OV-17/ 1.95 %OV-210:

1.5% OV-17/1.95% OV-210

Column Temperature , °C.

170		174		178		182		186		190		194		198	↓	202	204	
0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.09	TEPP
0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.09	0.09	0.09	0.10	0.10	0.10	0.11	0.11	0.11	0.12	Dichlorvos
0.12	0.13	0.13	0.14	0.14	0.15	0.15	0.16	0.16	0.17	0.17	0.18	0.18	0.19	0.19	0.20	0.21	0.21	Mevinphos
0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	Demeton thiono
0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	Thionazin
0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.22	0.22	0.22	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	Ethoprop
0.23	0.23	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27	0.28	0.28	0.29	0.29	0.29	0.30	Phorate
0.24	0.25	0.25	0.25	0.25	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.29	0.29	0.29	0.29	0.30	Sulfotepp
0.26	0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	Oxydemeton methy
0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	Diazinon
0.31	0.31	0.32	0.32	0.33	0.33	0.34	0.34	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.38	0.38	0.39	Naled
0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	Demeton thiolo
0.36	0.36	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.43	Disulfoton
0.37	0.38	0.38	0.39	0.39	0.39	0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42	0.43	0.43	0.43	0.44	0.44	Dioxathion
0.38	0.39	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.43	0.43	0.43	0.44	0.44	Diazoxon
0.44	0.44	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.50	Dichlofenthion
0.51	0.51	0.51	0.52	0.52	0.53	0.53	0.53	0.54	0.54	0.55	0.55	0.55	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	Cyanox
0.53	0.53	0.53	0.54	0.54	0.54	0.55	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	0.58	0.58	0.58	Dimethoate
0.55	0.55	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	0.58	0.58	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.61	0.61	0.61	0.62	Ronnel
0.57	0.57	0.57	0.58	0.58	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.61	0.61	0.61	0.62	0.62	0.63	0.63	0.63	Ronnoxon
0.78	0.77	0.76	0.76	0.75	0.74	0.73	0.73	0.72	0.72	0.71	0.70	0.69	0.68	0.68	0.67	0.66	0.65	Monocrotophos
0.66	0.66	0.67	0.67	0.67	0.67	0.68	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69	0.69	0.69	0.70	0.70	0.70	0.71	Zytron
0.74	0.74	0.74	0.74	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	Chlorpyrifos
0.74	0.74	0.74	0.75	0.75	0.75	0.76	0.76	0.77	0.77	0.77	0.78	0.78	0.78	0.79	0.79	0.79	0.80	Methyl Parathion
0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.81	0.81	0.81	0.81	Methyl Paraoxon
0.93	0.93	0.92	0.92	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.89	0.89	0.89	0.88	0.88	0.87	0.87	0.87	0.86	Malaoxon
0.92	0.92	0.92	0.92	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.89	0.89	0.89	0.89	Malathion
0.85	0.85	0.86	0.86	0.86	0.86	0.87	0.87	0.87	0.87	0.88	0.88	0.88	0.88	0.89	0.89	0.89	0.90	Bromophos
0.90	0.90	0.90	0.90	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	Fenthion
0.90	0.90	0.90	0.90	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	Fenitrothion
1.02	1.01	1.01	1.00	1.00	1.00	0.99	0.99	0.98	0.98	0.98	0.97	0.97	0.96	0.96	0.96	0.95	0.95	Phosphamidon
1.25	1.23	1.21	1.19	1.18	1.16	1.14	1.13	1.11	1.09	1.07	1.06	1.04	1.02	1.00	0.99	0.97	0.95	Schradon
1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	Parathion
1.06	1.06	1.06	1.06	1.05	1.05	1.05	1.05	1.05	1.05	1.05	1.05	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	Ethyl Paraoxon
1.05	1.05	1.05	1.05	1.06	1.06	1.06	1.06	1.06	1.06	1.05	1.05	1.05	1.05	1.04	1.04	1.04	1.03	Dicapthon
1.12	1.12	1.12	1.11	1.11	1.11	1.11	1.11	1.11	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.09	1.09	1.09	1.09	Bromophos Ethyl
1.23	1.22	1.22	1.22	1.21	1.20	1.20	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	Amidithion
1.40	1.39	1.38	1.38	1.37	1.36	1.35	1.34	1.33	1.32	1.32	1.31	1.30	1.29	1.28	1.27	1.26	1.25	Crufomate
1.36	1.35	1.35	1.34	1.34	1.33	1.33	1.32	1.32	1.31	1.31	1.30	1.30	1.29	1.29	1.28	1.27	1.27	Phenthoate
1.51	1.50	1.49	1.49	1.48	1.47	1.46	1.45	1.44	1.43	1.43	1.42	1.41	1.40	1.39	1.38	1.37	1.36	Folex
1.51	1.50	1.49	1.49	1.48	1.47	1.46	1.45	1.44	1.44	1.43	1.42	1.41	1.41	1.40	1.39	1.38	1.37	DEF
1.57	1.57	1.56	1.56	1.56	1.55	1.54	1.54	1.53	1.53	1.53	1.52	1.52	1.51	1.51	1.50	1.50	1.49	Iodofenphos
1.72	1.71	1.70	1.69	1.68	1.67	1.66	1.65	1.65	1.64	1.63	1.62	1.61	1.60	1.59	1.58	1.57	1.56	Tetrachlorvinpho
1.74	1.73	1.73	1.72	1.72	1.71	1.71	1.70	1.70	1.69	1.69	1.68	1.68	1.67	1.67	1.66	1.65	1.65	Methidathion
2.69	2.67	2.64	2.62	2.59	2.57	2.54	2.52	2.49	2.46	2.45	2.42	2.40	2.37	2.35	2.32	2.30	2.27	Carbophenoxon
2.88	2.85	2.82	2.79	2.76	2.73	2.70	2.67	2.64	2.61	2.58	2.55	2.52	2.49	2.46	2.43	2.40	2.37	Ethion
2.99	2.97	2.94	2.92	2.89	2.87	2.84	2.82	2.79	2.77	2.75	2.72	2.70	2.67	2.66	2.62	2.60	2.57	Carbophenothion
4.65	4.60	4.56	4.51	4.46	4.42	4.37	4.32	4.27	4.23	4.18	4.13	4.08	4.04	3.99	3.94	3.89	3.85	Fensulfothion
5.57	5.50	5.42	5.35	5.27	5.20	5.12	5.05	4.97	4.90	4.82	4.75	4.67	4.60	4.52	4.45	4.38	4.30	Phenkapton
6.07	5.99	5.90	5.82	5.74	5.65	5.57	5.49	5.40	5.32	5.24	5.15	5.07	4.99	4.90	4.82	4.74	4.65	Famphur
6.63	6.53	6.44	6.34	6.25	6.16	6.06	5.97	5.88	5.78	5.69	5.59	5.50	5.41	5.31	5.22	5.12	5.03	EPN
7.95	7.84	7.72	7.61	7.50	7.38	7.27	7.15	7.04	6.93	6.81	6.70	6.58	6.50	6.36	6.24	6.13	6.01	Imidan
10.9	10.7	10.6	10.4	10.3	10.1	10.0	9.8	9.7	9.5	9.3	9.1	8.9	8.7	8.5	8.3	8.1	7.9	Azinphos Methyl
14.4	14.1	13.9	13.6	13.3	13.0	12.8	12.5	12.2	11.9	11.7	11.4	11.1	10.9	10.6	10.3	10.1	9.8	Azinphos ethyl
22.2	21.8	21.3	20.9	20.4	20.0	19.5	19.1	18.6	18.2	17.2	17.3	16.8	16.4	15.9	15.5	15.0	14.6	Coumaphos
170		174		178		182		186		190		194		198		202	204	

Retention ratios, relative to ethyl parathion, of 54 organophosphorous pesticides on a column of 1.5% OV-17/1.95% OV-210 at temperatures from 170 to 204°C; column support of Gas Chrom-Q, 100/120 mesh; flame photometric detector, 5260 A° filter; all absolute retentions measured from injection point. Arrow indicates optimum column operating temperature with carrier flow at 70 ml per minute.

جدول رقم(٧-٢٣):قيم وقت الحبس علي عمود 1.5% OV-17/ 1.95 %OV-210:

1.5% OV-17/1.95% OV-210

Column Temperature, °C.

170		174		178		182		186		190		194		198	↓	202	204	Compound
0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	0.27	0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.31	Dimethyl Phthalate
0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	Mevinphos
0.34	0.34	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.41	Tecnazene
0.38	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.40	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	Diethyl Phthalate
0.44	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	2,4-D(ME)
0.42	0.42	0.43	0.43	0.44	0.44	0.44	0.45	0.45	0.45	0.46	0.46	0.47	0.47	0.48	0.46	0.48	0.49	Hexachlorobenzene
0.48	0.48	0.49	0.49	0.50	0.50	0.50	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	0.53	0.53	0.54	0.54	0.54	0.55	α-BHC
0.54	0.54	0.54	0.54	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	CDEC
0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	2,4-D(IPE)
0.54	0.54	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57	0.58	0.58	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.60	0.61	Chlordene
0.67	0.67	0.66	0.65	0.66	0.66	0.66	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	Diazinon
0.65	0.65	0.65	0.65	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.68	0.68	0.68	0.68	PCNB
0.66	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	Lindane
0.76	0.76	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.74	0.74	0.74	0.74	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	2,4,5-T(ME)
0.82	0.82	0.82	0.82	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	β-BHC
0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	Heptachlor
0.94	0.94	0.93	0.92	0.92	0.91	0.90	0.90	0.89	0.88	0.88	0.87	0.87	0.86	0.85	0.85	0.84	0.83	2,4,5-T(IPE)
1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	Aldrin (REFERENCE)
1.17	1.16	1.15	1.14	1.13	1.11	1.10	1.09	1.08	1.07	1.06	1.05	1.03	1.02	1.01	1.00	0.99	0.98	Dimethoate
1.17	1.16	1.16	1.15	1.14	1.14	1.13	1.12	1.12	1.11	1.10	1.09	1.09	1.08	1.07	1.07	1.06	1.05	Ronnel
1.49	1.48	1.45	1.43	1.41	1.40	1.38	1.36	1.34	1.32	1.31	1.29	1.27	1.25	1.23	1.22	1.20	1.18	Dibutyl Phthalate
1.41	1.40	1.39	1.38	1.36	1.35	1.34	1.33	1.32	1.31	1.30	1.29	1.28	1.27	1.26	1.25	1.24	1.23	1-Hydroxychlordene
1.49	1.49	1.47	1.47	1.46	1.45	1.44	1.44	1.43	1.42	1.42	1.41	1.40	1.39	1.39	1.38	1.37	1.36	Oxychlordane
1.71	1.69	1.67	1.66	1.64	1.62	1.60	1.59	1.57	1.55	1.53	1.52	1.50	1.48	1.47	1.45	1.43	1.41	M. Parathion
1.70	1.69	1.68	1.67	1.66	1.65	1.64	1.63	1.62	1.61	1.59	1.58	1.57	1.56	1.55	1.54	1.53	1.52	Heptachlor Epoxide
1.82	1.80	1.78	1.76	1.74	1.72	1.70	1.68	1.66	1.64	1.62	1.60	1.58	1.56	1.54	1.52	1.50	1.48	DCPA
2.07	2.04	2.01	1.98	1.95	1.92	1.89	1.87	1.94	1.81	1.78	1.75	1.72	1.69	1.66	1.63	1.60	1.57	Malathion
1.92	1.91	1.89	1.88	1.86	1.85	1.83	1.81	1.80	1.78	1.77	1.75	1.74	1.72	1.71	1.69	1.68	1.66	Chlordane, Gamma
2.02	2.00	1.99	1.97	1.95	1.93	1.92	1.90	1.88	1.86	1.85	1.83	1.82	1.79	1.78	1.76	1.74	1.73	*Trans*-Nonachlor
2.14	2.12	2.09	2.07	2.05	2.03	2.01	1.98	1.96	1.94	1.92	1.90	1.88	1.86	1.84	1.82	1.79	1.77	o,p'-DDE
2.32	2.28	2.25	2.22	2.19	2.16	2.13	2.09	2.06	2.03	2.00	1.97	1.93	1.90	1.87	1.84	1.81	1.78	E. Parathion
2.15	2.13	2.11	2.09	2.07	2.05	2.03	2.01	1.99	1.97	1.96	1.94	1.92	1.90	1.88	1.86	1.84	1.82	Chlordane, Alpha
2.20	2.18	2.16	2.15	2.13	2.11	2.10	2.08	2.06	2.05	2.03	2.01	2.00	1.98	1.97	1.95	1.93	1.91	Endosulfan I
2.75	2.72	2.68	2.64	2.61	2.58	2.54	2.51	2.47	2.43	2.40	2.37	2.33	2.30	2.27	2.23	2.20	2.17	p,p'-DDE
2.97	2.93	2.88	2.84	2.79	2.75	2.71	2.66	2.62	2.57	2.53	2.49	2.44	2.40	2.35	2.31	2.27	2.22	DDA(ME)
2.80	2.77	2.75	2.72	2.69	2.67	2.64	2.61	2.59	2.56	2.53	2.51	2.48	2.45	2.43	2.40	2.37	2.35	Dieldrin
3.34	3.29	3.25	3.20	3.15	3.11	3.06	3.01	2.97	2.92	2.88	2.83	2.77	2.74	2.69	2.65	2.60	2.56	o,p'-DDD
3.26	3.23	3.19	3.16	3.13	3.09	3.06	3.03	3.00	2.96	2.93	2.90	2.87	2.83	2.80	2.77	2.74	2.70	Chlordecone
3.47	3.43	3.40	3.36	3.33	3.29	3.26	3.22	3.18	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93	2.90	2.87	Endrin
3.98	3.94	3.88	3.83	3.77	3.71	3.66	3.60	3.54	3.48	3.43	3.38	3.32	3.27	3.21	3.16	3.10	3.04	o,p'-DDT
4.65	4.57	4.49	4.41	4.33	4.26	4.18	4.10	4.02	3.94	3.87	3.79	3.71	3.64	3.61	3.48	3.40	3.32	p,p'-DDD
4.45	4.39	4.34	4.28	4.23	4.17	4.11	4.05	3.99	3.94	3.88	3.82	3.76	3.71	3.65	3.59	3.54	3.48	Endosulfan II
5.57	5.48	5.39	5.29	5.20	5.11	5.01	4.92	4.83	4.74	4.64	4.55	4.46	4.36	4.27	4.18	4.09	4.00	p,p'-DDT
6.1	5.97	5.85	5.73	5.61	5.49	5.36	5.24	5.12	5.00	4.88	4.76	4.64	4.52	4.40	4.28	4.16	4.04	Ethion
6.4	6.2	6.1	5.99	5.88	5.76	5.64	5.52	5.40	5.28	5.16	5.04	4.92	4.80	4.68	4.56	4.44	4.32	Carbophenothion
7.7	7.6	7.5	7.3	7.3	7.1	7.0	6.9	6.8	6.7	6.6	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0	5.85	Mirex
10.7	10.5	10.3	10.1	9.9	9.7	9.5	9.3	9.1	8.9	8.7	8.5	8.3	8.1	7.9	7.7	7.5	7.3	Endrin Ketone "153
13.1	12.7	12.4	12.0	11.6	11.2	10.8	10.4	10.0	9.7	9.3	8.9	8.5	8.1	7.7	7.3	7.0	6.6	Dioctyl Phthalate
12.4	12.1	11.8	11.6	11.3	11.0	10.7	10.4	10.1	9.8	9.5	9.3	9.0	8.7	8.4	8.1	7.8	7.5	Methoxychlor
16.9	16.5	16.1	15.7	15.3	14.9	14.5	14.1	13.7	13.3	12.9	12.5	12.1	11.7	11.3	10.9	10.5	10.2	Tetradifon
22.1	21.5	20.9	20.3	19.6	19.0	18.4	17.7	17.1	16.5	15.8	15.2	14.6	14.0	13.4	12.7	12.1	11.5	Diphenyl Phthalate
170		174		178		182		186		190		194		198		202	204	

Retention ratios, relative to aldrin, of 49 compounds at temperatures from 170 to 204°C; support of Gas Chrom Q, 100/120 mesh; electron capture detector; tritium source, parallel plate; all absolute retentions measured from injection point. Arrow indicated optimum column operating temperature with carrier flow at 60 ml per minute.

جدول رقم(٧-٢٤):قيم وقت الحبس علي عمود 1.6 % OV-17/ 6.4 %OV-210:

Table 2(F)

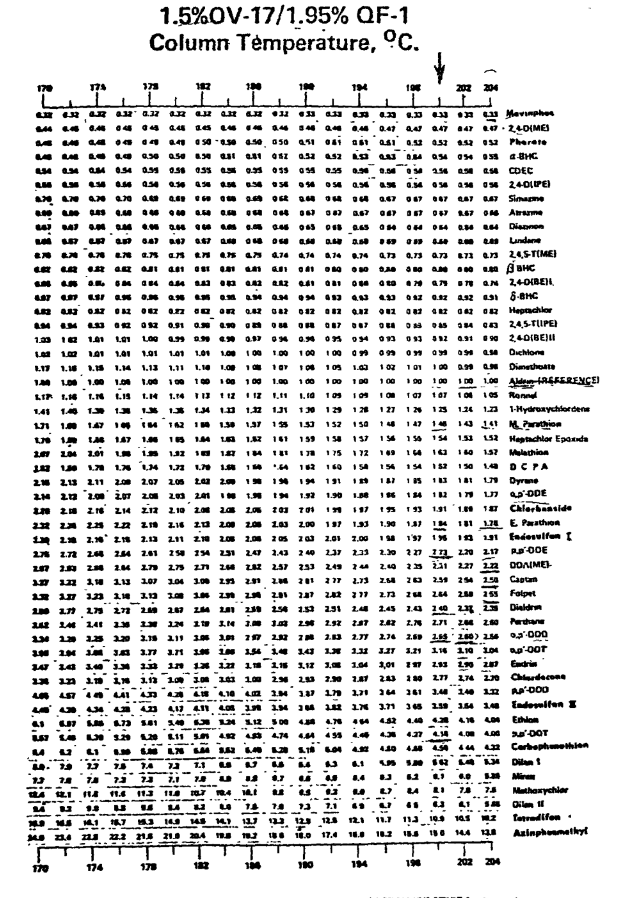
1.6%OV-17/6.4%OV-210

Column Temperature, °C.

170		174		178		182		186		190		194		198		202		
0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	Mevinphos
0.48	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	2,4-D(ME)
0.51	0.51	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.53	0.53	0.53	0.53	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	Phorate
0.49	0.50	0.50	0.51	0.52	0.52	0.52	0.53	0.53	0.54	0.54	0.55	0.55	0.56	0.57	0.57	0.58	0.58	α-BHC
0.56	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	0.57	0.58	0.58	0.58	0.58	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.60	CDEC
0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	2,4-D(IPE)
0.72	0.72	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	Simazine
0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	Atrazine
0.71	0.70	0.70	0.69	0.69	0.69	0.68	0.68	0.67	0.67	0.66	0.66	0.65	0.65	0.64	0.64	0.64	0.63	Diazinon
0.69	0.69	0.69	0.69	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	Lindane
0.84	0.84	0.83	0.83	0.82	0.82	0.82	0.81	0.81	0.80	0.80	0.80	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.77	2,4,5-T(ME)
0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84	β-BHC
0.96	0.96	0.95	0.95	0.94	0.93	0.93	0.92	0.91	0.91	0.90	0.90	0.89	0.88	0.88	0.87	0.86	0.86	2,4-D(BE)I
0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	δ-BHC
0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	Heptachlor
1.02	1.02	1.01	1.01	1.00	1.00	0.99	0.99	0.98	0.98	0.98	0.97	0.96	0.96	0.96	0.95	0.95	0.94	2,4,5-T(IPE)
1.13	1.12	1.12	1.11	1.10	1.09	1.08	1.07	1.06	1.05	1.04	1.04	1.03	1.02	1.01	1.00	0.99	0.98	2,4-D(BE)II
1.14	[illegible]	1.14	1.14	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12	Dichlone
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	1.28	1.27	1.26	1.26	1.25	1.25	1.24	1.23	1.23	1.22	1.22	1.21	1.21	1.20	Dimethoate
																		Aldrin (REFERENCE
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	1.21	1.20	1.20	1.19	1.18	1.17	1.17	1.16	1.15	1.15	1.14	1.13	1.13	1.12	Ronnel
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	1.40	1.40	1.39	1.38	1.38	1.37	1.36	1.36	1.35	1.34	1.34	1.33	1.33	1.32	1-Hydroxychlorden
[illegible]	[illegible]	1.99	1.98	1.96	1.95	1.93	1.92	1.90	1.88	1.87	1.85	1.84	1.82	1.81	1.79	1.78	1.76	M. Parathion
1.81	1.79	1.78	1.77	1.76	1.75	1.73	1.72	1.71	1.70	1.69	1.68	1.66	1.65	1.64	1.63	1.62	1.60	Heptachlor Epoxid
2.37	2.33	2.30	2.26	2.22	2.19	2.15	2.11	2.07	2.04	2.00	1.96	1.93	1.89	1.86	1.82	1.78	1.74	Malathion
2.06	2.04	2.02	1.99	1.97	1.95	1.93	1.91	1.88	1.86	1.84	1.82	1.80	1.77	1.75	1.73	1.71	1.69	DCPA
2.14	2.12	2.09	2.07	2.04	2.02	2.00	1.97	1.95	1.92	1.90	1.87	1.85	1.83	1.80	1.78	1.76	1.73	Dyrene
2.04	2.02	2.00	1.98	1.95	1.93	1.91	1.89	1.87	1.85	1.83	1.80	1.78	1.76	1.74	1.72	1.70	1.68	o,p'-DDE
2.18	2.16	2.14	2.11	2.09	2.07	2.04	2.02	2.00	1.97	1.95	1.93	1.90	1.88	1.86	1.84	1.81	1.79	Chlorbenside
2.80	2.76	2.73	2.69	2.66	2.62	2.59	2.55	2.52	2.48	2.44	2.41	2.37	2.34	2.30	2.27	2.23	2.20	E. Parathion
2.33	2.31	2.29	2.27	2.25	2.23	2.21	2.19	2.18	2.16	2.14	2.12	2.10	2.08	2.07	2.05	2.03	2.01	Endosulfan I
2.67	2.64	2.60	2.57	2.53	2.49	2.46	2.42	2.39	2.35	2.32	2.28	2.24	2.21	2.17	2.14	2.10	2.06	p,p'-DDE
3.07	3.02	2.97	2.92	2.87	2.82	2.78	2.73	2.68	2.63	2.58	2.54	2.48	2.44	2.39	2.34	2.29	2.24	DDA(ME)
3.58	3.54	3.49	3.44	3.40	3.35	3.30	3.26	3.21	3.17	3.12	3.07	3.03	2.98	2.94	2.89	2.84	2.80	Captan
3.51	3.46	3.42	3.37	3.33	3.28	3.24	3.20	3.15	3.10	3.06	3.02	2.97	2.93	2.88	2.84	2.79	2.75	Folpet
2.94	2.92	2.89	2.86	2.83	2.80	2.77	2.74	2.71	2.68	2.65	2.62	2.60	2.57	2.54	2.51	2.48	2.45	Dieldrin
3.24	3.18	3.12	3.07	3.01	2.95	2.90	2.84	2.78	2.72	2.66	2.61	2.55	2.49	2.44	2.38	2.32	2.26	Perthane
3.26	3.20	3.16	3.10	3.05	3.00	2.96	2.90	2.86	2.80	2.76	2.71	2.66	2.61	2.56	2.51	2.46	2.40	o,p'-DDD
3.81	3.75	3.70	3.64	3.58	3.52	3.46	3.40	3.35	3.28	3.23	3.17	3.11	3.05	3.00	2.94	2.88	2.82	o,p'-DDT
3.69	3.64	3.59	3.54	3.50	3.45	3.40	3.36	3.32	3.27	3.22	3.18	3.13	3.09	3.04	2.99	2.95	2.90	Endrin
3.18	3.15	3.12	3.09	3.06	3.03	3.00	2.97	2.94	2.91	2.88	2.85	2.82	2.80	2.77	2.74	2.71	2.68	Chlordecone
4.63	4.55	4.46	4.38	4.30	4.21	4.13	4.05	3.96	3.88	3.80	3.72	3.63	3.55	3.46	3.38	3.30	3.22	p,p'-DDD
4.60	4.54	4.48	4.42	4.35	4.30	4.24	4.17	4.12	4.05	4.00	3.94	3.88	3.82	3.75	3.69	3.63	3.57	Endosulfan II
6.2	6.0	5.92	5.79	5.67	5.54	5.42	5.29	5.16	5.04	4.92	4.79	4.67	4.54	4.42	4.29	4.17	4.04	Ethion
5.46	5.36	5.26	5.16	5.06	4.96	4.86	4.76	4.66	4.56	4.46	4.36	4.26	4.16	4.06	3.96	3.86	3.76	p,p'-DDT
6.35	[illegible]	[illegible]	5.96	5.83	5.69	5.56	5.43	5.30	5.16	5.03	4.90	4.77	4.63	4.50	4.37	4.24	4.10	Carbophenothion
9.1	8.9	8.7	8.5	8.3	8.2	8.0	7.8	7.6	7.4	7.2	7.0	6.8	6.7	6.5	6.3	6.1	5.90	Dilan I
7.0	6.9	6.8	6.7	6.6	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	5.97	5.87	5.77	5.67	5.57	5.48	5.38	5.28	Mirex
10.9	10.6	10.4	10.2	10.0	9.7	9.4	9.2	9.0	8.8	8.5	8.3	8.0	7.8	7.6	7.3	7.1	6.8	Methoxychlor
10.5	10.3	10.0	9.8	9.6	9.4	9.1	8.9	8.7	8.4	8.2	8.0	7.8	7.5	7.3	7.1	6.8	6.6	Dilan II
17.5	17.2	16.8	16.4	16.0	15.7	15.3	14.9	14.5	14.1	13.8	13.4	13.0	12.6	12.3	11.9	11.5	11.1	Tetradifon
24.5	23.8	23.2	22.5	21.9	21.3	20.7	20.0	19.4	18.8	18.2	17.6	17.0	16.3	15.7	15.1	14.5	13.8	Azinphosmethyl
170		174		178		182		186		190		194		198		202		

Retention ratios, relative to aldrin, of 49 pesticides on a column of 1.6%OV-17/6.4%OV-210 at temperatures from 170 to 204°C; support of Chromosorb W.H.P., 80/100 mesh; electron capture detector, tritium source, parallel plate; all absolute retentions measured from injection point. Arrow indicates optimum column operating temperature with carrier flow at 70 ml per minute.

جدول رقم(٧-٢٥):قيم وقت الحبس علي عمود 1.5 % OV-17/ 1.95 %QF-1:



1.5%OV-17/1.95% QF-1
Column Temperature, °C.

170		174		178		182		186		190		194		198		202	204	
0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	Mevinphos
0.44	0.46	0.46	0.46	0.45	0.46	0.45	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	2,4-D(ME)
0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	0.50	0.50	0.51	0.51	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	0.52	Phorate
0.48	0.48	0.48	0.49	0.50	0.50	0.50	0.51	0.51	0.52	0.52	0.52	0.53	0.53	0.54	0.54	0.54	0.55	α-BHC
0.54	0.54	0.54	0.54	0.55	0.56	0.55	0.56	0.55	0.55	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	CDEC
0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	2,4-D(IPE)
0.70	0.70	0.70	0.70	0.69	0.69	0.69	0.68	0.69	0.68	0.68	0.68	0.68	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	Simazine
0.69	0.69	0.69	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.66	Atrazine
0.67	0.67	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	Diazinon
0.66	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	Lindane
0.76	0.76	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.74	0.74	0.74	0.74	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	2,4,5-T(ME)
0.82	0.82	0.82	0.82	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	β BHC
0.85	0.85	0.85	0.84	0.84	0.84	0.83	0.83	0.82	0.82	0.81	0.81	0.80	0.80	0.79	0.79	0.78	0.76	2,4-D(BE)I
0.97	0.97	0.97	0.96	0.96	0.96	0.95	0.95	0.94	0.94	0.94	0.93	0.93	0.93	0.92	0.92	0.92	0.91	δ-BHC
0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	Heptachlor
0.94	0.94	0.93	0.92	0.92	0.91	0.90	0.90	0.89	0.88	0.88	0.87	0.87	0.86	0.85	0.85	0.84	0.83	2,4,5-T(IPE)
1.03	1.02	1.01	1.01	1.00	0.99	0.99	0.98	0.97	0.96	0.96	0.95	0.94	0.93	0.93	0.92	0.91	0.90	2,4-D(BE)II
1.02	1.02	1.01	1.01	1.01	1.01	1.01	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.99	0.99	0.99	0.99	0.98	0.98	Dichlone
1.17	1.16	1.15	1.14	1.13	1.11	1.10	1.09	1.08	1.07	1.06	1.05	1.03	1.02	1.01	1.00	0.99	0.98	Dimethoate
1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	Aldrin (REFERENCE)
1.17	1.16	1.16	1.15	1.14	1.14	1.13	1.12	1.12	1.11	1.10	1.09	1.09	1.08	1.07	1.07	1.06	1.05	Ronnel
1.41	1.40	1.39	1.38	1.36	1.35	1.34	1.33	1.32	1.31	1.30	1.29	1.28	1.27	1.26	1.25	1.24	1.23	1-Hydroxychlordene
1.71	1.69	1.67	1.66	1.64	1.62	1.60	1.58	1.57	1.55	1.53	1.52	1.50	1.48	1.47	1.46	1.43	1.41	M. Parathion
1.70	1.69	1.68	1.67	1.66	1.65	1.64	1.63	1.62	1.61	1.59	1.58	1.57	1.56	1.55	1.54	1.53	1.52	Heptachlor Epoxide
2.07	2.04	2.01	1.98	1.95	1.92	1.89	1.87	1.84	1.81	1.78	1.75	1.72	1.69	1.66	1.63	1.60	1.57	Malathion
1.82	1.80	1.78	1.76	1.74	1.72	1.70	1.68	1.66	1.64	1.62	1.60	1.58	1.56	1.54	1.52	1.50	1.48	D C P A
2.16	2.13	2.11	2.09	2.07	2.05	2.02	2.00	1.98	1.96	1.94	1.91	1.89	1.87	1.85	1.83	1.81	1.79	Dyrene
2.14	2.12	2.09	2.07	2.05	2.03	2.01	1.98	1.96	1.94	1.92	1.90	1.88	1.86	1.84	1.82	1.79	1.77	o,p'-DDE
2.20	2.18	2.16	2.14	2.12	2.10	2.08	2.05	2.05	2.03	2.01	1.99	1.97	1.95	1.93	1.91	1.89	1.87	Chlorbenside
2.32	2.28	2.25	2.22	2.19	2.16	2.13	2.09	2.06	2.03	2.00	1.97	1.93	1.90	1.87	1.84	1.81	1.78	E. Parathion
2.20	2.18	2.16	2.15	2.13	2.11	2.10	2.08	2.06	2.05	2.03	2.01	2.00	1.98	1.97	1.96	1.93	1.91	Endosulfan I
2.76	2.72	2.68	2.64	2.61	2.58	2.54	2.51	2.47	2.43	2.40	2.37	2.33	2.30	2.27	2.23	2.20	2.17	p,p'-DDE
2.87	2.83	2.88	2.84	2.79	2.75	2.71	2.66	2.62	2.57	2.53	2.49	2.44	2.40	2.35	2.31	2.27	2.22	DDA(ME)
3.27	3.22	3.18	3.13	3.07	3.04	3.00	2.95	2.91	2.86	2.81	2.77	2.73	2.68	2.63	2.59	2.54	2.50	Captan
3.32	3.27	3.23	3.18	3.13	3.08	3.05	2.99	2.96	2.91	2.87	2.82	2.77	2.73	2.68	2.64	2.58	2.55	Folpet
2.80	2.77	2.75	2.72	2.69	2.67	2.64	2.61	2.58	2.56	2.53	2.51	2.48	2.45	2.43	2.40	2.37	2.35	Dieldrin
3.52	3.46	3.41	3.36	3.30	3.24	3.19	3.14	3.08	3.03	2.98	2.92	2.87	2.82	2.76	2.71	2.66	2.60	Perthane
3.34	3.29	3.25	3.20	3.15	3.11	3.06	3.01	2.97	2.92	2.88	2.83	2.77	2.74	2.69	2.65	2.60	2.56	o,p'-DDD
3.90	3.84	3.88	3.83	3.77	3.71	3.66	3.60	3.54	3.48	3.43	3.38	3.32	3.27	3.21	3.16	3.10	3.04	o,p'-DDT
3.47	3.43	3.40	3.36	3.33	3.29	3.26	3.22	3.18	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93	2.90	2.87	Endrin
3.36	3.23	3.19	3.16	3.13	3.09	3.06	3.03	3.00	2.96	2.93	2.90	2.87	2.83	2.80	2.77	2.74	2.70	Chlordecone
4.65	4.57	4.49	4.41	4.33	4.26	4.18	4.10	4.02	3.94	3.87	3.79	3.71	3.64	3.61	3.48	3.40	3.32	p,p'-DDD
4.46	4.39	4.34	4.28	4.23	4.17	4.11	4.05	3.99	3.94	3.88	3.82	3.76	3.71	3.65	3.59	3.54	3.48	Endosulfan II
6.1	5.97	5.85	5.73	5.61	5.49	5.36	5.24	5.12	5.00	4.88	4.76	4.64	4.52	4.40	4.28	4.16	4.04	Ethion
5.67	5.48	5.38	5.29	5.20	5.11	5.01	4.92	4.83	4.74	4.64	4.55	4.46	4.36	4.27	4.18	4.08	4.00	p,p'-DDT
6.4	6.2	6.1	5.98	5.86	5.76	5.64	5.52	5.40	5.28	5.16	5.04	4.92	4.80	4.68	4.56	4.44	4.32	Carbophenothion
8.0	7.9	7.7	7.5	7.4	7.2	7.1	6.9	6.7	6.6	6.4	6.3	6.1	5.95	5.80	5.62	5.48	5.34	Dilan I
7.9	7.8	7.8	7.3	7.3	7.1	7.0	6.9	6.8	6.7	6.6	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0	5.89	Mirex
12.4	12.1	11.8	11.6	11.3	11.0	10.7	10.4	10.1	9.8	9.5	9.2	9.0	8.7	8.4	8.1	7.8	7.6	Methoxychlor
9.4	9.2	9.0	8.8	8.6	8.4	8.2	8.0	7.8	7.6	7.3	7.1	6.9	6.7	6.5	6.3	6.1	5.88	Dilan II
16.9	16.5	16.1	15.7	15.3	14.9	14.5	14.1	13.7	13.3	12.9	12.5	12.1	11.7	11.3	10.9	10.5	10.2	Tetradifon
24.0	23.4	22.8	22.2	21.6	21.0	20.4	19.8	19.2	18.6	18.0	17.4	16.8	16.2	15.6	15.0	14.4	13.8	Azinphosmethyl

Retention ratios, relative to aldrin, of 48 pesticides on a column of 1.5%OV-17/1.95%QF-1 at temperatures from 170 to 204°C; support of Chromosorb W.H.P., 100/120 mesh; electron capture detector, tritium source, parallel plate; all absolute retentions measured from injection point. Arrow indicates optimum column operating temperature with carrier flow at 60 ml per minute.

جدول رقم (٧-٢٦) :وقت الحبس النسبي ل ١٠٨ مبيد فوسفوري عضوي ومعقمات كيماوية

Relative Retention Times (t_R) of 108 Organophosphorus Pesticides, Metabolites, Break-Down Products and Insect Chemosterilants Temperature-Programmed on 5 Columns[a]

Pesticide (or related compound)	Ratio of t_R of Component to t_R Parathion (1.00)				
	Dexsil 300	OV-101	OV-17	OV-210	OV-225
Abate®	2.57	2.67	3.06	2.43	[b]
Amidithion	0.94	0.95	1.04	1.01	1.15
Apholate	1.60	1.83	1.83	1.41	[d]
Azinphosethyl	1.68	1.85	1.85	1.75	1.72
Azinphosmethyl	1.62	1.75	1.79	1.70	[b]
Bay 30911	0.64	0.65	0.67	0.42	0.61
Bay 37289	0.98	1.08	0.96	0.68	0.80
Bay 37342	0.97	1.01	1.05	0.73	0.92
Carbophenothion	1.37	1.48	1.41	1.08	1.22
Carbophenothion O-analog	1.26	1.35	1.33	1.18	1.21
Chipman RP-11783	1.40	1.42	1.49	1.45	1.45
Chlorpyrifos	0.92	1.00	0.98	0.65	0.82
Chlorpyrifos O-analog	0.93	0.97	1.00	0.95	0.93
Chlorthion	1.04	1.00	1.05	1.03	1.08
Ciba C-2307	0.55	0.53	0.64	0.69	0.70
Ciba C-8874	1.25	1.39	1.30	0.93	1.08
Ciba C-9491	1.16	1.25	1.23	0.86	1.06
Ciba C-9491 O-analog	1.10	1.15	1.18	1.01	1.09
Compound 4072	1.04	1.13	1.10	0.98	1.00
Coumaphos	1.88	1.97	1.88	2.10	1.81
Coumaphos O-analog	1.80	1.90	1.83	2.29	1.86
Crotoxyphos	1.17	1.14	1.16	1.14	1.07
Crufomate	0.98	1.02	1.04	1.00	1.03
Dasanit	1.34	1.36	1.43	1.56	1.42
Dasanit sulfone	1.38	1.38	—	1.62	—
Dasanit O-analog	1.28	1.27	1.36	1.72	1.43
Dasanit O-analog sulfone	1.31	1.28	—	1.73	—
DEF®	1.16	1.32	1.16	0.89	0.95
Demeton	0.48	0.48	0.50	0.31	—
	0.64	0.62	0.67	0.55	0.63
Diazinon	0.66	0.73	0.71	0.41	0.58
Diazoxon	0.64	0.69	0.70	0.60	0.63
Dicapthon	1.02	1.01	1.03	0.98	1.03
Dichlorvos	0.17	0.17	0.18	0.17	0.21
Dicrotophos	0.60	0.55	0.67	0.81	0.78
Dimethoate	0.68	0.61	0.78	0.72	0.96

تابع جدول رقم (٧-٢٦) :وقت الحبس النسبي ل ١٠٨ مبيد فوسفوري عضوي ومعقمات كيماوية

Pesticide (or related compound)	Ratio of t_R of Component to t_R Parathion (1.00)				
	Dexsil 300	OV-101	OV-17	OV-210	OV-225
Dimethoate *O*-analog	0.51	0.49	—	0.71	—
Dioxathion	0.15	0.23	0.23	0.16	0.20
	0.66	0.67	0.76	0.51	0.71
	1.44	2.10	—	1.67	—
Disulfoton	0.71	0.75	0.74	0.47	0.66
Disulfoton sulfoxide	1.19	1.18	1.25	1.42	1.36
Disulfoton sulfone	1.19	1.18	1.24	1.43	1.36
Disulfoton *O*-analog	0.63	0.63	0.66	0.55	0.65
Disulfoton *O*-analog sulfoxide	1.08	1.02	—[b]	—[b]	—[b]
Disulfoton *O*-analog sulfone	1.08	1.01	1.16	1.46	[b]
Dition®	2.25	2.34	2.23	2.40	2.16
Dyfonate®	0.72	0.72	0.75	0.46	0.66
Dyfonate *O*-analog	0.61	0.60	0.65	0.54	0.64
EPN	1.57	1.66	1.59	1.58	1.46
Ethion	1.29	1.41	1.36	1.12	1.19
Famphur	1.44	1.46	1.50	1.75	1.55
Fenitrothion	0.92	0.93	1.00	0.93	1.00
Fenitrothion *O*-analog	0.83	0.81	0.91	1.08	1.00
Fenthion	0.93	1.00	1.02	0.72	0.93
Fenthion sulfoxide	1.36	1.36	1.47	1.60	1.44
Fenthion sulfone	1.35	1.36	1.47	1.66	1.50
Fenthion *O*-analog	0.85	0.89	0.99	0.88	0.95
Fenthion *O*-analog sulfoxide	1.27	1.27	1.42	1.76	1.45
Fenthion *O*-analog sulfone	1.27	1.27	1.42	1.80	1.54
Formothion	0.81	0.77	—	0.88	—
Gardona®	1.11	1.21	1.19	1.05	1.09
Geigy G-28029	1.53	1.69	1.58	1.27	1.37
Hempa	0.24	0.23	0.22	0.31	0.25
Imidan®	1.53	1.64	1.68	1.60	1.60
Imidoxon	1.41	1.51	1.59	1.70	[b]
Leptophos	1.58	1.79	1.66	1.32	1.40
Leptophos *O*-analog	1.48	1.66	1.59	1.40	1.39
Malathion	0.89	0.98	0.97	0.87	0.92
Malaoxon	0.82	0.85	0.88	0.99	0.92
Menazon	1.43	1.63	1.75	1.39	—[b]

تابع جدول رقم (٧-٢٦) :وقت الحبس النسبي ل ١٠٨ مبيد فوسفوري عضوي ومعقمات كيماوية

Pesticide (or related compound)	Ratio of t_R of Component to t_R Parathion (1.00)				
	Dexsil 300	OV-101	OV-17	OV-210	OV-225
Merphos®	1.00	1.13	0.97	0.51	0.68
	1.16	1.29	1.17	0.88	0.95
Metepa	0.39	0.41	0.44	0.44	0.54
Methiotepa	0.41	0.43	0.43	0.28	0.39
Methyl parathion	0.88	0.85	0.93	0.90	0.97
Methyl trithion®	1.29	1.36	1.36	1.00	1.21
Mevinphos	0 30	0.29	0.34	0.34	0.38
Monocrotophos	0.59	0.55	0.73	0.82	0.95
Naled	0.52	0.55	0.61	0.43	0.57
Nemacide®	0.81	0.84	0.80	0.54	0.69
Oxydemetonmethyl sulfone	0.95	0.88	1.08	1.38	—[b]
Parathion	1.00	1 00	1.00	1.00	1.00
Paraoxon	0.90	0.90	0.95	1.14	1.00
Phorate	0.57	0.60	0.60	0.35	0.53
Phorate sulfoxide	0.98	0.96	1.05	1.05	1.16
Phorate sulfone	0.99	0 97	1.05	1.14	1.16
Phorate *O*-analog	0.48	0.50	0.54	0.43	0.51
Phorate *O*-analog sulfoxide	0.87	0.83	0.97	1.17	1.14
Phorate *O*-analog sulfone	0.87	0.83	0.97	1.18	1.14
Phosalone	1.66	1.77	1.68	1.72	1.58
Phosfon®	0.70	0.75	0.60	0.81	0.64
Phosphamidon	0.84	0.85	0.89	1.12	0.97
Phoxim	1.14	—	—	—	—
Phoxim *O*-analog	0.92	0.94	—	1.16	—
Pirazinon®	0.48	0.50	0.56	0.52	0.57
Potasan®	1.70	1.73	1.70	1.98	1.70
Ronnel	0.85	0.93	0.88	0.60	0.76
Schradan	0.73	0.70	0.73	0.31	0.81
Shell SD-8280	1.07	1.00	1.04	0.89	0.97
Shell SD-8436	1.15	1.24	1.29	1.09	1.18
Shell SD-8448	1.19	1.33	1.25	1.14	1.11
Stauffer N-2788	0.84	0.86	0.86	0.57	0.75
Tepa	0.37	0.33	0.46	0.40	0.58
Tepp	0.12	0.12	0.12	0.14	0.12
Thiometon	0.61	0 63	—	0.43	—
Thiometon sulfoxide	—[b]	—[b]	—	—[b]	—
Thiometon sulfone	1.10	1.05	—	1.32	—

٢ – تفسير نتائج التحليل الكمي (Interprtation of Quantitative Analysis) :

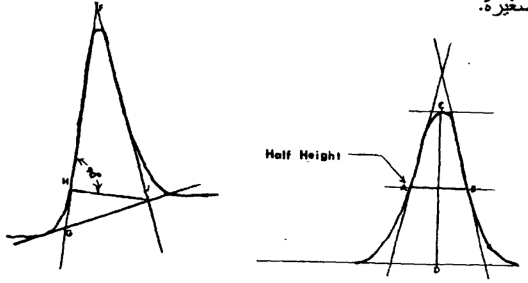
يتم تفسير نتائج التحليل الكمي للمركبات التي تـم فصلـها مـن خـلال حساب قيم تركيزاتها من خلال أحدى الطرق التالية :

٢-١-قياس ارتفاع المنحنى (Peak high) :

حيث يقاس ارتفاع المنحنى كدلالة على تركيز المركـب فتوجـد علاقـة خطية بين التدرج في زيادة التركيز وارتفاع المنحنيات الناتجـة عـن هـذه التركيزات.

وهنا يتم عمل منحنى قياس (Standard curve) نتيجـة عـدة تراكـيزات متدرجة من المركب النقي ثم قياس ارتفاع كل منحنى ناتج عن كل تركيز ثـم يقسم ارتفاع المنحنى على التركيز الناتج منه فنحصل علـى قيمـة الثـابت K_1 للتركيز C_1 هكذا مع باقي التركيزات حتي نحصـل علـى ثوابـت كـل التركيزات وبجمعها وقسمتها على عدد التركيزات نحصل على الثابت العـام K' ، شكل رقم (٧-٤٥)

وعلية فعند قياس تركيز مجهول لمركب ثم حقنه ويقاس ارتفاع المنحنـى الناتج عنه ويقسم على الثابت الخاص بهذا المركب نحصـل علـى تركـيزه ويعيب هذه الطريقة في حساب التركيز عدم إمكان القياس الدقيق للمنحنيـات الصغيرة.



شكل رقم (٧-٤٥) : حساب مساحة المنحني بدلالة قياس ارتفاعه

٢-٢-قياس مساحة المنحنى (Peak area) :

وفيها تقاس مساحة المنحنى الناتج عن التركيز كدلالة على هذا التركيز وذلك من خلال عدة طرق حيث يوجد ارتباط خطى بين التركيز المحقون ومساحة المنحنى الناتج عنه مثل :

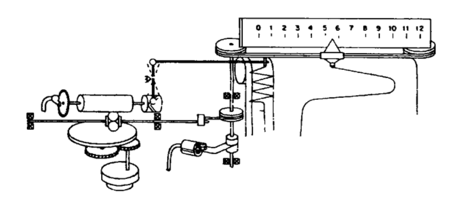
- قياس المساحة بواسطة البلانيميتر (Planimeter) فيتم تمرير ابرة البلانيميتر بدقة على حدود المنحنى ثم تقرأ بعد ذلك دورانية البلانيميتر فتعطى المساحة بدقة بالغة وتفيد هذه الطريقة في حالة المنحنيات الغير منظمة .
- أو بحساب مساحة المنحنى باعتباره مثلث وذلك بضرب نصف القاعدة × الارتفاع .
- أو بحساب المنحنى بطريقة تكاملية (Integration) حيث تحسب طول قاعدة المنحنى عند منتصف ارتفاعه وتكون المساحة كما بالشكل رقم (٧ - ٤٦) هي : = طول القاعدة عند منصف الارتفاع × الارتفاع

وتكون المساحة الحقيقة للمنحنى هي=ارتفاع المنحنى×الانحراف القياس×(٢,٥)^١/٢

ويقاس الانحراف القياسي بنصف اتساع المنحنى عند ٠,٦٧ من طول المنحنى: أي أن المساحة = ارتفاع المنحنى × اتساع القاعدة عند منصف الارتفاع

وهذه المساحة تطابق ٠,٩٤ من مساحة المنحنى الحقيقي .

وهنا يتم عمل منحنى قياس للمركب المراد قياس تركيزه كما سبق وتحقن هذه التركيزات وتحسب مساحة المنحنى الناتج من كل تركيز وتحسب قيمة الثابت K لكل تركيز ثم يحسب متوسط الثوابت للتركيزات المستخدمة `K كما سبق .



شكل رقم (٧-٤٦): حساب التركيز بدلالة قياس مساحة المنحني

٢-٣-قطع المنحنى ووزنه (Peak Cutting out & Weight) :

حيث يتم قطع المنحنى على محيطه الخارجي بدقة ثم يوزن كدلالة على تركيز المركب حيث يزداد وزن المنحنى بزيادة التركيز وهنا يتم عمل منحنى قياس لتركيزات متدرجة من المركب وتفصل ثم يقطع المنحني من كروماتوجرام كل تركيز ويوزن وبقسمة وزن كل منحنى على التركيز الناتج من نحصل على الثابت K وهكذا كما سبق فنحصل على K` ، شكل رقم (٧-٤٧) .

وعلية فعند قياس تركيز مركب ما ثم حقنه فإنه يتم قطع المنحنى الناتج ويوزن ثم يقسم على K الخاصة بالمنحنى القياس لهذا المركب ونحصل على التركيز وتتوقف هذه الطريقة على تجانس الورق والمحتوى الطولي والدقة في قص المنحنيات وغالبا لا تستخدم هذه الطريقة .





شكل رقم (٧-٤٧) : حساب التركيز بدلالة وزن المنحني

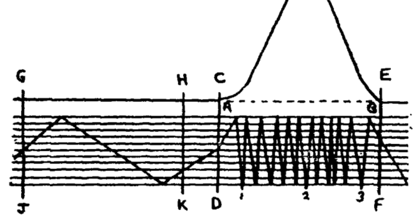
٢-٤-العداد التكاملي الرقمي (Digital integrates) :

وهنا يظهر التركيز في صورة قراءة رقمية على عدد رقمي تكاملي (Digital counts) وهو عداد إليكتروني يقوم بحساب المساحة تحت المنحنى

كشرائط طولية يتم تجمعها وتحويلها الإشارات إليكترونية مستمرة (مللي فولت) تلتقط وتحول إلى ملليفولت .

٢-٥ – العداد التكاملي الميكانيكي (Mechanical Disk) :

وهنا يتم حساب المساحة يدويا برسم خط الأساس أسفل المنحنى ثم يسقط إسقاط رأسيا من قم المنحنى على القاعدة ثم تسقط الخطوط الراسية التالية عند بداية قمة المنحنى من الجانبين (ج د ،ه و) فيتقاطعا مع العددات التكاملية وكل تقاطع (ضربة) = ١٠,٠ أما الضربات الجزئية فتكون قيمتها من (١ – ١٠) تبعا للخطوط المارة عليها ففي الضربات السريعة تكون أطول بعد كل ١٠ ضربات لذا لا يوصي باستخدامها في المنحنيات الصغيرة السريعة (سريعة الإزاحة) لكبر الخطأ ، شكل رقم (٧-٤٨) .



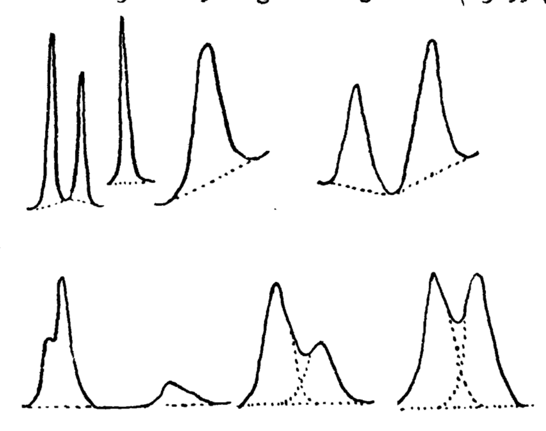
الضربة الجزئية الأولي(Partial stroke)	= ٥	٢٢٨
الضربة الكاملة (Full stroke)	١٠=	
الضربات من ١-٢	١٠٠=	
الضربات من ٢-٣	١٠٠=	
ضربة كاملة أخيرة	١٠=	
ضربة جزئية أخيرة	٣=	

وحيث أن ضربات خط الأساس غير مستقيمة لذا يلزم التصحيح بطرح مسافة متساوية من خط الأساس (ك ل) تساوي (ج ه) ويسقط منها خطوط رأسية (ل ت) و (ك م) لتقاطع العدادات التكاملية وتطرح من المجموع الكلي للحصول علي مساحة المنحني (٢١١)

<u>شكل رقم (٧-٤٨)</u> : حساب التركيز بدلالة حساب المساحة تحت المنحني بالعداد التكاملي الميكانيكي

ومما هو جدير الذكر أن طريقة الحاسب الإلكتروني (Electronic integrator) تعتبر من أوحد الطرق للتقدير الكمي حيث تتغلب على مشاكل انحراف خط الأساس وكذا المنحنيات الغير مفصولة وتعطي الحاسبات الإلكترونية تقرير يبين فيه قيمة وقت الجبس لكل مكون في العينة ومساحة المنحنى و % التركيز المكونة وتركيز المركب المراد تقدير بمعلومية حقنة المركب القياسي .

ويلاحظ أن مساحة كل منحنى ما هي إلا تقدير كمية مكونه موجودة بالعينة حيث تتناسب المساحة تحت المنحنى طرديا مع كمية المكون الموجود وتلعب أشكال المنحيات دورا كبيرا في عملية التحليل الكمي من حيث هل هي متناسقة أو غير متناسقة مستعرضة داخل أو خارج حدود الكروماتوجرام مفصولة أو مفصولة فصل جزئيا والشكل التالي رقم (٧-٤٩) كيفية رسم خط الأ ساس تحت المنحنى للمنحنيات المفصولة فصلا .



<u>شكل رقم (٧-٤٩)</u> : كيفية رسم خط الأساس تحت المنحني

وتوضح الكروماتوجرامات التالية ظروف فصل بعض السموم بجهاز الكروماتوجرافى الغازي من حيث :

١ – نوع الجهاز المستخدم في الفصل ٠

٢ – نوع عينة التحليل ٠

٣– مواصفات العمود ونوع الكاشف المستخدم ٠

٤ – الطور السائل بمادة تعبئة العمود ٠

٥ – مادة الامتصاص المعبأة بالعمود ٠

٦ – درجة حرارة الفرن ٠

٧ – درجة حرارة الحقن والكاشف ٠

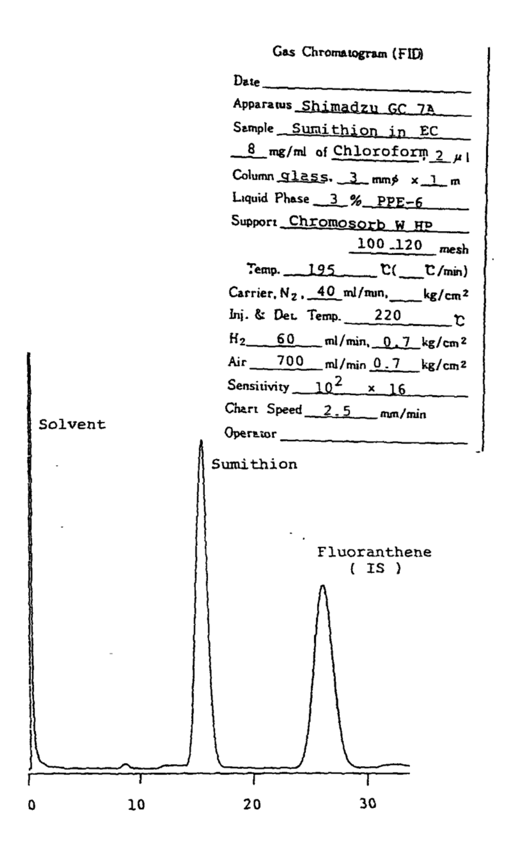
٨ – معدل سريان الغاز الحامل ونوعه ٠

٩ – معدل سريان الغاز المشتعل ونوعه ٠

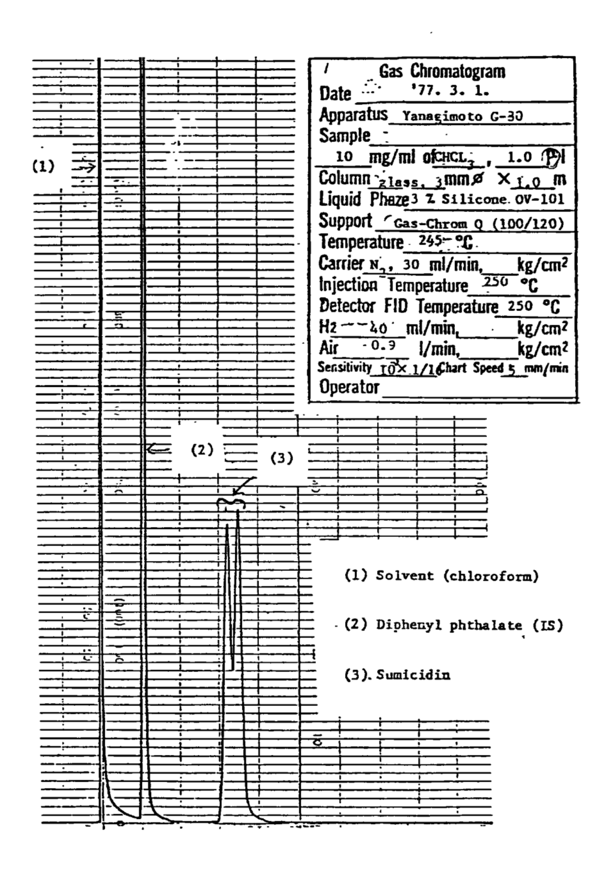
١٠– معدل سريان الغاز الهواء .

١١– الحساسية .

١٢– سرعة الورق

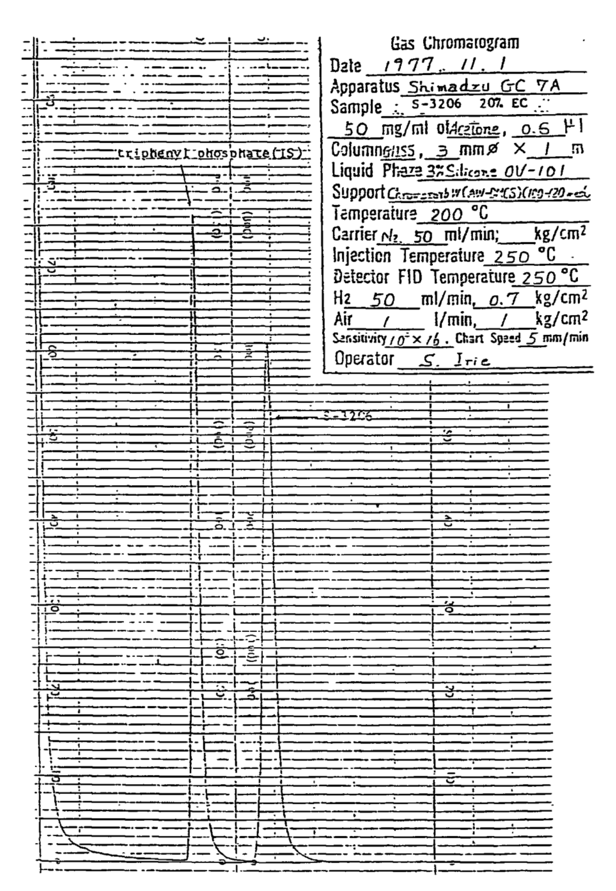


شكل رقم (٧-٥٠) : منحني فصل السوميثيون والفلورانثين :



شكل رقم (٧-٥١) : منحني فصل السوميثيدين

شكل رقم (٧-٥٢) : منحني فصل البينامين



شكل رقم (٧-٥٣) : منحني فصل الريزولكس

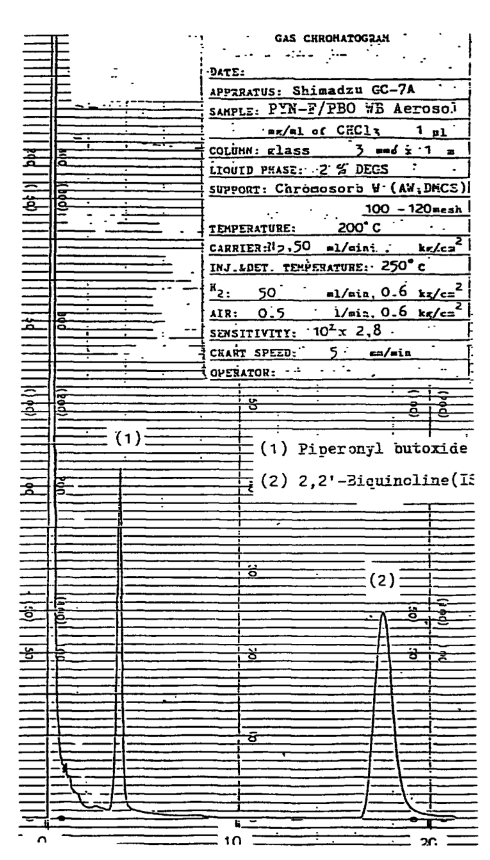
Gas Chromatogram

Date 1977. 11. 1.
Apparatus Shimadzu GC 7A
Sample S-3206 20% EC
50 mg/ml of Acetone, 0.5 μl
Column glass, 3 mmø × 1 m
Liquid Phase 3% Silicone OV-101
Support Chromosorb W (AW-DMCS) (100-120 mesh)
Temperature 200 °C
Carrier N_2 50 ml/min; kg/cm²
Injection Temperature 250 °C
Detector FID Temperature 250 °C
H_2 50 ml/min, 0.7 kg/cm²
Air 1 l/min, 1 kg/cm²
Sensitivity $10^2 \times 16$. Chart Speed 5 mm/min
Operator S. Irie

triphenyl phosphate (IS)

S-3206

شكل رقم (٧–٥٤) : منحني فصل S-3206



شكل رقم (٧-٥٥) : منحني فصل البيرونيل بيوتوكسيد

الباب الثامن

كروماتوجرافي السائل عالي الأداء

كروماتوجرافي السائل عالي الأداء

(High Performance Liquid Chromatography : HPLC)

يعتبر كروماتوجرافي السائل عالي الأداء أحـــدي الطـــرق الأساســية لتحليل مخلفات السموم في بعض مكونات الأنظمة البيئية حيث يمتاز بالدقـــة والحساســية العاليـــة شـــأنه شـــأن الكرومـــاتوجرافي الغـــــازي (GC) والكروماتوجرافي الغازي السائل (GLC) كما تظهر مميزات استخدامه فـــي عدم الاعتماد علي تطاير العينة أو تأثرها بالحرارة كمـــا هـــو الحـــال فـــي الكروماتوجرافي الغازي والغازي السائل هذا بالإضافة إلي كفـــاءة الفصـــل العالية جداً لفصل العديد من المركبات المختلفة .

ويقوم الجهاز بفصل مكونات العينة ثم التعرف عليها وتقديرها كمياً ويتـــم الفصل عن طريق توزيع العينة ما بين طورين :

- أحدهما طور متحرك سائل :
- والآخر طور ثابت سائل أو صلب والذي عادة يكون في عمود طولـــه حوالي ٢٥ سم وقطره الداخلي ٤ مـــم وتعتمـــد كفـــاءة الفصـــل علـــي مواصفات العمود وبصفة خاصة علي قطـــر جزيئـــات المـــادة المعبـــأة ويلاحظ أن خفض قطر الجزيئات يؤدي إلي تحسين أداء العمـــود ومـــن ناحية أخري يرفع الضغط للحصول علي معدل سريان مناســـب للطـــور المتحرك خلال العمود ولهذا السبب فإنه يعبر عنـــها بـــالضغط العـــالي للكروماتوجرافي السائل ، ويوضح الشكل التالي (٨-١) تخطيط لمكونـــات الجهاز وفيما يلي شرح مبسط لأهم مكونات الجهاز:

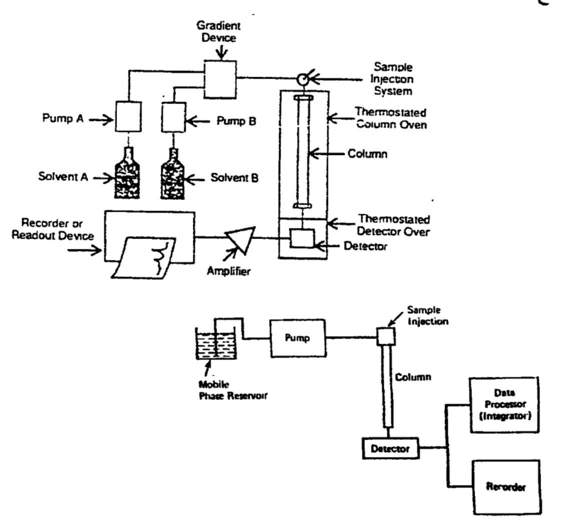
١-خزان الطور المتحرك (Mobile phase reservoir) :

عبارة عن خزان مملوء بالطور المتحرك أو المذيب المستخدم لإمـــداد المضخة بالمذيب اللازم لفصل العينات .

٢-المضخة(Pump) :

تعتبر المضخة مع نظام الضخ المستخدم ذات أهمية كبري فتقـوم برفـع الوسط المتحرك (المذيب) داخل عمود الفصل وقد تكون المضخة ذات ضغط ثابت (constant pressure) أو ذات إزاحة ثابتة (Constant displacement) أوكلاهما معا .

ويجب وأن تتميز بالقدرة علي دفع السائل داخل العمود بسـريان ثـابت وبمعدلات مختلفة مع أقل ضوضاء ممكنة علي الضغوط المخفضة والعاليـة وهنا يجب التغلب علي نبض السريان (الضوضاء) بكاتم بنبضـات أو بكـاتم إليكتروني (Electronic damper) لضمان ثبات خط الأساس (Base line) خاصـة مع الكاشفات الحساسة.



شكل رقم (٨-١) تخطيط يوضح أهم مكونات جهاز كروماتوجرافي السائل عالي الكفاءة HPLC

وتتعدد أنواع من المضخات :

٢-١-مضخات دافعة للغاز (Gas driven Liquid displacement): ذات مكابس ملفوفة (Holding coils)

٢-٢-والغازية (Pneumatic) وتعتمد علي ضغط الغاز في دفع السائل حيث توضح المكابس الملفوفة ضغط ثابت في حدود ١٥٠٠ (بسكال) ويعيبها عدم استخدامها في التشغيل المذيبي المتدرج في حين تصلح المكابس الغازية لهذا الغرض علاوة أنها تعطي ضغط ثابت أيضاً.

٢-٣-مضخة دافعة للسائل (Fluid driven) حيث يستخدم بها نظام الضخ الهيدروليكي لدفعة السائل خلال العمود بسريان عدم النبض أو الضوضاء وذلك من خلال استعمال مكبسين أو أكثر لعمليات الدفع وتستخدم هذه المضخة في التشغيل المذيبي المتدرج.

٢-٤-مضخة كابسة ميكانيكية (Mechanical piston) تدفع المذيب خلال العمود أثناء شوط الكبس وفي شوط السحب تملء غرفة المكبس ثانية وتكرر العملية بمساعدة مكبسين أو أكثر مما يقلل من النبضات وهذه المضخة تعطي سويان ثابت كما أنها تعمل علي الضغوط المرتفعة وفي حالة التشغيل المذيبي المتدرج يتم استعمال مضختين مع مغير إليكتروني للتحكم في نظام التدرج.

٢-٥-مضخة حاقنة فيقوم المكبس اللولبي بإزاحة المذيب عن المخزن إلي العمود وبوصول النظام للاتزان يمكن الحصول علي معدل سريان ثابت وضغط مرتفع .

ونظام الإزاحة المتدرجة يستخدم لتحسين كفاءة الفصل وخاصة في مخاليط المركبات التي لها قيم معامل توزيع واسعة الاختلاف لذا يلزم تزويدها بأداة التدرج (Gradient device) للحصول علي إزاحة متدرجة وخاصة في نظام الفصل بالتبادل الأيوني (Ion-Exchange) .

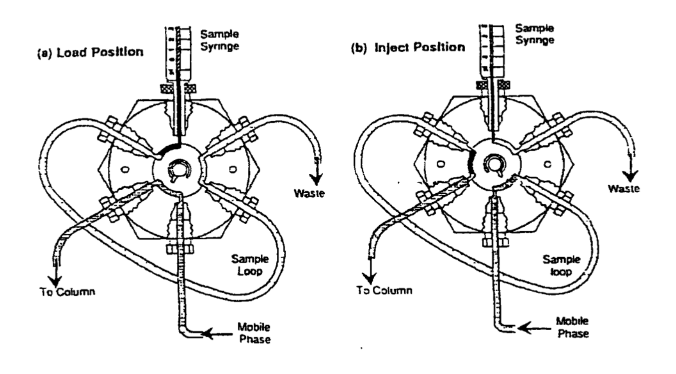
٣- الحاقن (Injector) :

ويتم به حقن العينة ووصولها إلي مقدمة العمود في نطاق ضيق بحقنة ميكروليترية (Syring injection) خلال الحاجز (Septum) علي ضغط قد يصل إلي ١٥٠٠ (بسكال) وهذا النوع من الحقن يماثل جداً الحقن في جهاز GLC , GC وهنا تكون ملائمة الحاجز (Septum) لبعض المذيبات هامة وكذا القدرة لمقاومة الضغوط العالية المرتجعه وتمتاز بأنها

بسيطة واقتصادية والعائق الرئيسي فيها ينشأ من تفتت أجزاء من الحاجز المطاطي بالإبرة وتراكمها في مقدمة العمود فتلوثه أو سد المسار المذيبي فيتغير في الضغط.

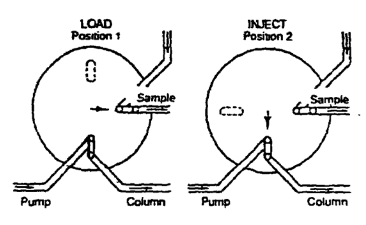
وقد يتم الحقن بإيقاف سريان المذيب (Stopped flowing) فينخفض الضغط فيسهل الحقن علي الضغط الجوي ثم يعاد استئناف السريان وحمل العينة بالعمود .

وقد يتم الحقن بنظم آلية مزودة بصمامات (Loop valves) فتمتلئ العروة بالعينة علي الضغط الجوي وعند إدارة الصمام يبدأ المذيب بالمرور خلال اللوب حاملاً العينة إلي العمود وتعمل الصمامات بنظام حاقن العروة الخارجي (External loop injector) أو حاقن العروة الداخلي (Internal loop injector) ويوضح شكل رقم (٨-٢) حاقن العروة الخارجي وهي تعطي أحجام حقن من ٥ - ٠,١ ميكروليتر وحتى ١٠ - ٢٠ .



شكل رقم (٨-٢) حاقن العروة الخارجي والمزود بست فتحات.

فعندما يدار الصمام لوضع التحميل Load position (a) نجـد أن الوسـط المتحرك ينساب مباشرة من المضخة إلي العمود من حيـث يربـط عـروة العينة فتحة الحقن (Injection) وفتحة مزدوج الصرف (Waste) فتملء العـروة بالعينة بواسطة الحقنة الميكروليترية . وعندما يدار الصمام لوضـع الحقـن Injection position (b) نجد أن الطور المتحرك ينساب خلال فتحة عروة العينـة أخذا معه العينة لداخل العمود ، شكل رقم (٨-٣) يوضـح حـاقن العـروة الداخل ذو أربعة فتحات والميسر لحقن أحجام عن ٠,٥-٥ ميكروليتر.



شكل رقم (٨-٣) حاقن العروة الداخلي والمزود بأربعة فتحات

٤- الأعمدة (Columns) :

تتكون معظم الأعمدة الصلب الذي لا يصدأ أو من البولي إيثيلين وتسمي بأعمدة الضغط القطري (الشعاعي) Redial compression columns حيـث يتـم ضغطها إشعاعيا بضغط هيدروليكي أثناء الاستخدام مما يزيـد مـن كفـاءة العمود وبطول بين ١٠-٣٠سم وقطر داخلي يتراوح بين ٢-٦مم تبعا لنـوع مادة التعبئة وتعبأ برقائق صغيرة مـن ٣ - ١٠ ميكرومـتر وذات توزيـع حجمي ضيق ± ٢٠% واستخدامها بهذا الحجم يحتاج لضخ الطور المتحـرك بالعمود تحت ضغط عالي الذي يعتبر مرشح ذو كفاءة عالية حيث تبقـي أي شوائب دقيقة علي قمة العمود أثناء حقنها ولذا يتم وضع عمود حارس guard)

ضغط عالي الذي يعتبر مرشح ذو كفاءة عالية حيث تبقي أي شوائب دقيقة علي قمة العمود لذا وضع عمود حارس(guard column) بينه وبين أداة الحقن

كذلك توجد أعمدة قصيرة ٣-١٠سم معبأة بدقائق ٣-٥ ميكروميتر تمتاز بسرعة الفصل مع الكفاءة العالية وزيادة حساسية الكاشف .

وهناك اتجاه لاستخدام أعمدة ذات مسام دقيقة ٠,٢-١مم كفاءتها عالية خاصة مع المخاليط لزيادة عدد الشرائح النظرية (مليون) وتحتاج لأحجام صغيرة من الطور المتحرك بمعدل انسياب ٢٥-٢٥٠ ميكروليتر/ دقيقة.

٤-١-اختيار العمود(Column selection):

يتم اختيار العمود المناسب من خلال معرفة الوزن الجزيئي ودرجة الذوبان والتركيب الأيوني أو الجزيئي للمادة المراد تحليلها وبمساعدة البحوث المنشورة أو من خلال شركات تصنيعها .

٤-٢-أعمدة التحليل (Analytical columns) :

٤-٢-١-ذات الطور الطبيعي (Normal phase :WP)

وهي تشمل أعمدة ادمصاص كالسيلكا جيل والألومينا وكذا الأعمدة المرتبطة القطبية كالسيانو وأمينو وديول باستخدام أطوار متحركة غير قطبية وتعتبر السيلكا جيل هي الأكثر استخداماً في الأعمدة ذات الطور الطبيعي للفصل (NP) ولكن لم تستخدم بشكل واسع لتحليل متبقيات السموم.

٤-٢-٢-ذات الطور العكسي (Reversed phase : Rp)

من أكثرها استخداما لكل الأعمال التحليلية كالمبيدات وتشمل أعمدة السيلكا القاعدية C-18 والأطوار المرتبطة C-8 ، ١-٢ ، C-1 ,C-2 . C-4 , C-30 ومجاميع السيانو والفينايل وديول والسيلكوهكسيل وفي هذه الطريقة (RP) نجد أن الطور الثابت يكون غير محب للماء : غير قطبي بينما الأطوار المتحركة تكون قطبية نسبياً وعادة ما تكون ماء مع ميثانول أو أسيتونتريل وعليه فأن مكونات العينة الغير قطبية يتم احتجازها بشدة بينما تكون المكونات القطبية أقل احتجازاً. ومن أهم تطبيقات للطور العكسي في تحليل مخلفات المبيدات :

عمود C-B للكلوروسالونيل

CN للمبيدات الفطرية كالكاتبان والفولبت والكابتافول.

CN , C18 لمبيدات الفنيل يوريا

C18 لمبيدات الكاربامات وتتطابق ظروف استخدامه EPA لعمليات

الفصل والتقدير لمركبات الكربامات في الماء بالحقن المباشر مع عمود الاشتقاق .

٤-٢-٣-التبادل الأيوني (Ion Exchange) :

يوجد بعض مواد التعبئة للتحليل العالي الأداء :

- كالجيل المعقد (Polystrene DVB) وبدقائق ٥-١٠ ميكرومتر وتحتوي علي استبدالات لمجاميع أيونية حيث تحدد كمية DVB المضافة لعملية البلمرة درجة التشابك وتركيب المسام .
- والراتنجات Resins المحتوية علي ٦% DVB تكون غير ثابتة الضغط ومن ثم لا تعتبر مواد تعبئة ولقد وجد أن التوزيع أو الانتشار البطيء للمذاب خلال مادة المعقد ينتج عنها كفاءة منخفضة وهو ما أدي لتطوير المواد الخاصة بالتبادل الأيوني للوصول لكفاءة فصل عالية كمبادلات السيلكا ذات المسام الدقيقة ٥-١٠ميكرومتر والمعتمدة التبادل الأيوني للطور المرتبط تعطي كفاءة عالية علي درجة حرارة الغرفة وتستجيب بسرعة للتغيرات في تركيب الطور المتحرك ومشكلة الإزاحة المتدرجة تكون أقل من الجيل المعقد بسبب عدم تغير حجم التركيب المعبأ أثناء التحليل أما عيوبها فتنحصر في سعة مبادلات السيلكا حيث تكون (0.5-2 m equiv/g) مقارنة بالجيل المعقد (3-5 m equiv /g) .

٤-٢-٤-الزوج الأيوني (Ion – pair):

تكون المواد المتأينة عالية الذوبان في الماء فلا تبقي علي أعمدة الفصل R P – BPC ويمكن زيادة كفاءة عمليات الفصل والاحتفاظ بإضافة محلول منظم ذو درجة أس أيون هيدروجين معين للوسط المتحرك لإخماد عملية التأين أو بعمل ازدواج أيوني غير محب للماء بين المادة التي يتم فصلها والأيون الداخلي ذو الشحنة المخالفة وهي طريقة مفضلة لفصل الأحماض والقواعد الضعيفة علي عمود طور عكسي مرتبط (C-18) مع محلول منظم للطور المتحرك ويستخدم جوهر مناسب للازدواج ذو شحنة عكسية.

ويشيع استخدام أملاح Tri alkyl ammonium لربط المواد الحامضية وألكيل سلفوريك للمواد القاعدية المراد فصلها وميكانيكية الفصل غير واضحة إلا أن إدماج طريقة التبادل الأيوني وكروماتوجرافي التجزيء هي الأقرب.

٤-٢-٥-الاستبعاد الحجمي (Size exclusion) :

تعتمد عمليات الفصل علي اختلاف الجزيئات المفصولة في الحجم

والشكل حيث يتم التحكم في حجم المسام لمادة التعبئة فوجد أن الجزيئات في المدى من ٥-٢٠ ميكرومتر تعطي كفاءة فصل عالية بالعمود ومواد التعبئة المستخدمة في الاستبعاد الحجمي تشمل الجيل العضوية والسليكا المسامية والزجاج المتحكم في مسامية.

والاستخدام الرئيسي لكروماتوجرافي الاستبعاد الحجميSES في تحليل متبقيات المبيدات يكون من خلال تنقيتها ومواد التعبئة الأكثر استخداماً تكون بوليمرات Styrene – DVB مثل Bio – Beads S-X3 فحد الاستبعاد الحجمي يحدد بكمية DVB المسئولة عن عمل شبكة في الجيل أما السيلكا ذات المسام الدقيقة .

تقيم العمود (Column evaluation) :

يقيم العمود من خلال قياس خصائص الأداء المختلفة والمشاهدة علي كروماتوجرام الفصل حيث وجد أن كفاءة العمود وتماثل المنحنيات تعكس جودة العمود وعامل السعة والاختيارية تشير إلي مقدرته علي الاحتفاظ والفصل للمركبات المعنية :

١-عامل السعة (Capacity factor : k) :

ويقيس احتفاظ العمود بالمذاب في علاقة بحجم العمود حيث يتأثر بقوة الطور المتحرك (القطبية) وقوة تعبئة العمود (الاحتفاظ) وتكون قيمة K مثالية من ٢-١٠ للمركب ويتم حسابها من المعادلة:

$$K = tr / to$$

حيث : tr تمثل وقت الحبس (mm)

to تمثل مسافة الإزاحة للمكون الغير محتجز (mm) وهي تمثل الوقت من الحقن حتى الدخول إلي مقدم المذيب.

٢-الاختيارية (Selectivity : α)

عامل ديناميكي حراري يتأثر بكيميائية النظام كله بالإضافة لفعالية مكونات العينة ويقيس قدرة التوافق للعمود والطور المتحرك لإعطاء معاملات تجزئة مختلفة لمادتين بسبب درجات الاحتفاظ المختلفة للمادتين وتدل عليها أقصي منحنين لهما ويقاس بحساب نسبة tr أو k :

$$\alpha = K_2 / K_1 = tr_2 / tr1$$

٣-الكفاءة (Efficiency) :

عامل حركي يشير لقدرة توافق العمود والطور المتحرك لإعطاء منحنيات ضيقة ويعتمد علي حجم الجزيئ وأبعاد العمود وطريقة التعبئة

وتحدد بعدد الطبقات النظرية (N) في العمود وبفرض أن فترة الاحتجاز Rt واتساع المنحني W والتي يمكن الحصول عليها من الكروماتوجرام وتحسب من المعادلة:

theoretical plates : N = 16 (tr/W)2 = 5.54 (tr/ wh)2

وحيث أن عدد الطبقات النظرية يتناسب طرديا مع طول العمود (L) ويعبر عن فاعلية العمود بعدد الوحدات النظرية بالنسبة لوحدة الطول.

Efficiency = Column length (cm) / N

٤-كفاءة فصل المنحنيات (Resolution) :

مقدرة العمود والطور المتحرك لفصل منحنين يمثلان مادتين مختلفتين فمدي كفاءة فصل مركبين في مخلوط يرجع لكفاءة الفصل بين المنحنين ويتوقف ذلك علي مدي تحدب كل منحني ويمكن حسابها من المعادلة:

$$R = 2\,(tr_2 - tr1)\ /\ w1 + w_2 = 2\,(tr_2 - tr_1)\ /\ 1.699\,(w_1/2 + w_2/2$$
$$= 2(At)\ /\ w_1 + w_2 = 1/4\,(\alpha\text{-}1)\,N\,(k\ /\ 1 + k)$$

فإذا كانت قيمة(R) > : ١,٢ ينفصل المركبين تماماً بنسبة تداخل تقدر بـ ٠,٣% فقط
= ١,٠٠ ينفصل المركبين فصل جيد بنسبة تداخل تقدر ٢%.
< ١,٠٨٥ يكون التداخل شديد
=٠,٧٥ يكون التداخل بنسبة ٥% ويكون الفصل غير جيد.

٥-تماثل المنحني(Peak asymmetry :As) :

تصف شكل ومدي تماثل المنحني وتتأثر بشكل كبير رديء في الأعمدة المعبأة وعدم التوافق بين مادة التعبئة والمركب المراد فصله ويمكن حسابها من المعادلة والشكل التالي يجمع خصائص وقياسات تقيم العمود (٨-٤٠).

$$As = b / a$$

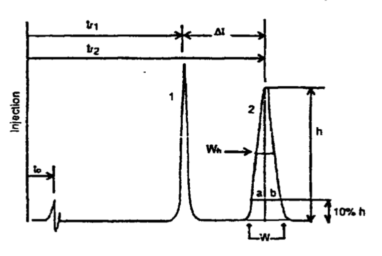
حيث a ,b تمثلا عرضي نصف المنحني بإرتفاع المنحني (١٠%)
فإذا كانت النسبة = ١ تدل علي تماثل المنحني
<١ تدل علي حدوث تذليل بالمنحني
>١ تدل علي تماثل حدوث Fromting

٤- حماية أعمدة التحليل Analytical column protiction

٤-١-المرشحات(Filters) :

قد يكون بناء كيماويات تمثل ملوثات في رأس العمود السبب الرئيسي لانهيار الأعمدة فتؤدي لزيادة الضغط العكسي ونتائج تحليل شاذة ولـذا يتم

استخدام مرشح لمذيبات الطور المتحرك لإزالة وأستبعاد الشوائب ويجـب أن تكون حكم مسام المواد المتكلسة وشبه المنصهرة (frits) أصغر من نصـف قطر الرقائق المعبأة ويوصي بالنظافة الدورية لها في حمام موجـات فـوق صوتية في محلول ٦ مولر حمض نيتريك وخاصة عندمـا يزيـد الضغـط العكسي للعمود.



Terms

t_r = retention time, mm

t_o = elution distance of unretained component, mm

t'_r = $t_r - t_o$ (adjusted retention time)

a,b = peak half-width at 10% peak height, mm

Δt = time between peak maxima, mm

W = peak width at base, mm

h = peak height, mm

W_h peak width at half height, mm

Calculation of Parameters

Capacity factors, k'	t'_r/t_o
Selectivity, α=	k'_2/k'_1 or t'_{r2}/t'_{r1}
Efficiency, N theoretical plates=	$16(t_r/W)^2$ or $5.54(t_r/W_h)^2$
Efficiency, HETP=	column length (cm)/N
Resolution=	$2(\Delta t)/(W_1+W_2)$ or $(^1/_4)(\alpha-1)\sqrt{N}(k'/1+k')$
Peak asymmetry=	$A_s=b/a$

شكل رقم (٨-٤): أهم خصائص وقياسات تقيم العمود

٤-٢-الأعمدة الأولية(pre columns) :

وتوضع قبل حاقن العينة وهو معبأ بالسليكا حيث يقـــوم بتشـــبيع الطـــور المتحرك بالسليكا فلا تنوب السليكا المرتبطـــة والمعبـــأة بـــالعمود بـــالطور المتحرك أثناء الاستخدام.

٤-٣- الأعمدة الحارسة Guard Column

أعمدة تكون قصيرة من ٢-٦سم ومعبأة بنفس مواد تعبئة العمود ولذلك قـد تقوم بوظيفة الأعمدة الأولية حيث تشبع الطور المتحول حتى لا ينوب الطـور الثابت ويجب تغيرها تبعا لدرجة تلوثها وتوضع بين الحاقن وعمود التحليـل لحمايته من الضرر فيحتجز الشوائب التي قد تدمص علي جزيئات مادة تعبئـة العمود وخاصة عند حقن عينات خام مستخلصة أو سوائل بيولوجيـــة يجـب الأخذ في الاعتبار النقاط التالية:

٤-٣-١-عدم سقوط أو اهتزاز الأعمدة .

٤-٣-٢-يتم امرار المذيب خلال العمـــود بالطريقـــة الموضحـــة بالشـــركة المصنعة حتى لا تؤثر علي كفاءة العمود.

٤-٣-٣-عند بداية العمل يتم تزويد محول السريان تدريجيا حتـــى نتجنـب صدمة الضغط وتكوين مسارات في العمود.

٤-٣-٤-عدم وضع العمود في أشعة الشمس

٤-٣-٥-يتم غسيل العمود بعد الانتهاء من حقن العينات الغير نظيفة بمذيـب اقوي من الطور المتحرك

٤-٣-٦-عند تخزين الأعمدة في حالة عدم استخدمها يجـــب اتزانـــها مـــع مذيب مناسب منفصلة عن الجهاز حيث تخزن أعمدة الطور العكسي في الماء والميثانول والاسيتونتريل أو مخلوط من الماء والاسيتونتريل أو مخلوط مـــن الماء والميثانول.

٤-٣-٧-لتجديد الأعمدة يتم الغسيل بالمذيبات من الضعيف للقـــوى (غـــير قطبي للقطبي وذلك لأعمدة الطور العادي NP والعكس لأعمدة الطور العكسي CRP مع الأخذ في الاعتبار قابلية الذوبان في كل مرحلة والشوائب القاعديـــة يمكن غسيلها بحمض ١-٥% فوسفوريك أو أسيتيك أما الشوائب الحامضية فيتم غسيلها بمحلول ١-٥ % بيريدين أما المواد البيولوجية والدهون فـــتزال عن أعمدة الطور العكسي بغسيلها بكلوريد الميثلين .

طرق العناية بالأعمدة :

- تنظف أعمدة السيلكا جيل باستعمال ١٠٠-٢٠٠ مل ميثيلين كلوريد أو كلوروفورم أو استخدام سلسلة من المذيبات التالية: تتراهيدروفيوران – ميثانول– ميثلين كلوريد - هكسان ١٠٠ مل وبالإضافة إلى إزالة المركبات القطبية فإنه يتم إزالة الماء أيضا .
- بالنسبة لأعمدة الطور العكسي (CR) لمنع ترسيب الأملاح بها تنظيف باستعمال ١٠٠-٢٠٠ مل ماء ثم مخلوط ماء/ ميثانول (٥٠/٥٠) ثم ميثانول النقي (٥٠ مل) وفي حالة إزالة المواد الملونة شديدة الالتصاق يتم حقن ١٠٠-٢٠٠ ميكروليتر داى ميثيل سلفوكسيد أثناء التنظيف بالماء (عدة مرات) ثم ١٠٠ مل من الميثانول ثم الكلوروفورم ثم الميثانول
- تغسل أعمدة التبادل الأيوني بالماء ثم الميثانول ثم الكلوروفورم ١٠٠ مل لكل منهما وقد يستعمل تتراهيدروفيوران بعد الماء في الأعمدة الكيتونية وقد يحقن ميثيل سلفوكسيد أثناء الغسيل بالماء

٥-الكشافات (Detectors) :

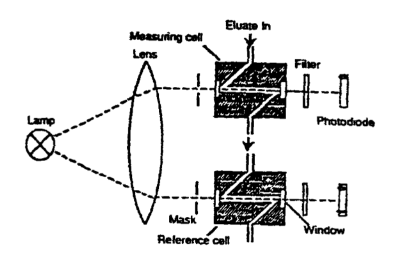
هناك العديد من الكشافات المتخصصة في الكشف عن مخلفات السموم بعينات مكونات الأنظمة البيئية والتي تختلف عن بعضها في الأطوال الموجية التي يتم الامتصاص بها ودرجة الحساسية وخاصة مع كاشفات القياس الضوئي والفلورسنس :

٥-١-كاشف الأشعة فوق البنفسجية (UV/Vis-Detector):

وهو كاشف متخير (selective) يعمل في المدى من ١٩٠-٤٠٠ نانوميتر ويستجيب لتركيزات ١٠ $^{-٩}$ (PPb) في حجم قدرة ١٠ ميكروليتر ومزود بلمبة زئبق تقوم بتوليد شعاع مكثف ٢٤٥ أو ٢٨٠ نانوميتر أو لمبة زئبق متوسطة الضغط ومرشحات لفصل خطوط اشعاعية ب٢٥٤،٢٢٠, ٢٨٠, ٣١٣, ٣٣٤،٣٦٥ نانوميتر وهذا النوع من الكاشفات يعرف بكاشف الطول الموجي الثابت ، شكل رقم (٨-٥) .

٥-٢-كاشفات UV/Vis Detector :

متغير الطول الموجي ويعطي أطول موجبة بين ١٩-٨٠٠ نانوميتر



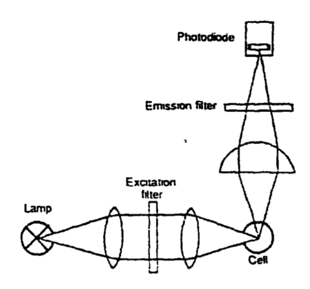
شكل رقم (٨-٥) : كاشف UV/VIS المثبت للطول الموجي ومسار الأشعة

من خلال أنظمة الأطوال الموجبة المتغـــيرة المســتمرة ومــزود بمصــدر ديوتيريوم مستمر أو مصدر تنجستين لمنطقة الضوء المرئي ويوضح الشــكل التالي مسار الأشعة بكاشف UV/VIS المتغير الطول الموجب (٨-٦)

شكل رقم(٨-٦): كاشف UV/VIS المتغير الطول الموجي ومسار الأشعة

٥-٣-كاشف الفلورسنس (Fluoroscence detector) :

يتميز بالحساسية العالية فتصل إلي ١٠^-١٢ جم (ppt) في ١٠ ميكروليتر مما يزيد من المقدرة العالية لتقدير متبقيات السموم مقارنة بالكاشفات الاسبكتروفوتومترية ويعطي أطوال موجية متغيرة في المدى من ١٩٠ - ٦٠٠ نانوميتر ومزود بلمبة زئبق لإعطاء شعاع ضوئي يمر خلال مرشح لاختيار الطول الموجي للإثارة ، شكل رقم (٨-٧) ويستخدم مع المركبات التي لها خاصية الوميض.



شكل رقم (٨-٧) : مسار الأشعة بكاشف الفلورسنس

وهناك كشافات التغير في معامل الانكسار (Refractive index) والتأين باللهب(Flame ionization) ويمكن استخدامها في الكشف عن أي مركب عضوي ٠,١ ملجم (١٠٠ميكروجرام) لعينة قدرها ١٠ ميكروليتر وهناك كشافات الأشعة التحت حمراء (Infra Red:IR), وكاشف Electro chemical المتخصص في الكشف عن السموم الكلورونية .

وفي بعض الأحيان قد يكون الجهاز مزود بضابط لدرجة حرارة العمود والكاشف (Column & Detector temperature control) وبصفة عامة فمعظم التحليلات تتم علي درجة حرارة الغرفة وقد يتم الحاجة إليها مع الفصل

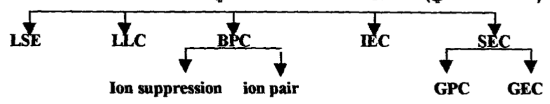
بنظام كروماتوجرافي التبادل الأيوني إلا أن منظم درجة حرارة الكاشف قد يكون ذات قيمة خاصة لثبات الفصل بالأنظمة الأسبكتروفوتومترية.

٦-المسجل (Recorder) :

وحدة تقوم بتسجيل نتائج التحليل للمركبات المراد تقديرها والتعرف المبدئي عليها وهناك العديد من المسجلات الأتوماتيكية التي تساهم إلي حد كبير للإسراع في حساب النتائج .

نماذج التشغيل (Modes of operation) :

أظهرت عمليات الفصل خمسة من نماذج التشغيل الأساسية لخمس أنواع من أعمدة الفصل (سائل - صلب) ، (طور مرتبط) ، (تبادل أيوني) ، (استبعاد حجمي) كما يوضحها التخطيط التالي :



وهناك اختلافان داخل نظم التشغيل الخمسة يعتمدا علي تميز القطبية للأطوار الثابتة والمتحركة.

١-كروماتوجرافي الطور الطبيعي (Normal phase : NP)

فيكون الطور الثابت أكثر قطبية من الطور المتحرك فتزاح المركبات الأقل قطبية أولاً ويزيد الاحتفاظ بالمركبات بانخفاض قطبية الطور المتحرك.

٢-كروماتوجرافي الطور المنعكس(Reverse phase : RP)

فيكون الطور الثابت أقل قطبية من الطور المتحرك فتزاح المركبات الأكثر قطبية أولاً ويزيد الاحتفاظ بالمركبات بزيادة قطبية الطور المتحرك.

استعراض هذه النماذج الخمس باختصار:

١-كروماتوجرافي سائل-صلب:كروماتوجرافي الادمصاص (LSC)

يستخدم مادة أدمصاص كالسيلكا جيل أو السيلكا الغير مغطـاة ويسـتخدم هذا النظام لفصل مخلوط من المركبات الغير قطبية حيث يعتبر ذات أهميـة في فصل المشابهات ومجاميع المركبات المختلفة في درجة القطبيـة وكذلـك لفصل عدد من المجاميع الفعالة ويعمل بشكل ممتاز مع المواد التي لها درجـة قطبية منخفضة نسبيا أو متوسطة وأساس الفصـل يعتمـد علـي الاختيـار الأدمصاصي للمركبات القطبية علي سطح السيلكا جيل وعليه فأن قوة الطـور المتحرك تحدد معدل ادمصاص وإزاحة المركبات الأليفاتية القطبية.

٢-كروماتوجرافي سائل-سائل: كروماتوجرافي التجزئة (LLC)

يستخدم دعامة صلبة كالسـيلكا جيـل أو Kieselguhr والتـي تغطـي بطريقة ميكانيكية بفيلم سميك من سائل عضوي قطبي أو قليل القطبية بينمـا يكون الطور المتحرك غير قطبي وقد أعطي هـذا النظـام فصـل أفضـل للمركبات الأليفاتية القطبية والعضوية القابلـة للذوبـان فـي المـاء بعمـود (NPLLC) والمغطي بـ ٢٠ - ٤٠% ββ-oxy dipropionitrile والطور المتحرك من مذيب غير قطبي والهكسان.

٣-كروماتوجرافي الطور المرتبط (BPC)

فتستبدل طريقة LLC بطريقة BPC حيث يستخدم الوسط الثابت المرتبـط كيماويا مع السيلكا جيل من خلال تفاعل مجـاميع Silanol مـع Chlorosilane المستبدل ويتميز عن نظام LLC بعدم تغير الطور الثـابت بمـرور الطـور المتحرك علية و بتغيرالحرارة حيث يمكن أن يستخدم معه جميـع المذيبـات دون الحاجة لتشبيع الطور المتحرك بالطور الثابت كمـا يسـتخدم للإزاحـة المتدرجة لتحسين كفاءة الفصل.

والمركبات المتأينة تكون عالية الذوبان في الماء ومن ثم لا تحجز علـي أعمدة RP - BPC ولذا يمكن زيادة كفاءة الفصل والاحتفاظ من خلال :

- الإخماد الأيوني Ion suppression وذلك بإضافة محلول منظم ذو درجـة أس أيون هيدروجين مناسبة والمواد التي تحلل بطريقة RP-BPC عادة تتـم علي أعمدة C18 مستخدما الميثـانول أو الأسـتيونزيل بالإضافـة إلـي المحلول المنظم كوسط متحرك.
- الازدواج الأيوني :بعمل ازدواج أيوني غير محب للماء بين المركـب المفصول وأيون ذو شحنة مخالفة ويستخدم هذا النظام لفصل الأحمـاض والقواعد الضعيفة والقوية وكذلك بعض المركبات الأيونية العضوية حيث

يستخدم عمود C18 وطور متحرك يشتمل علي محلول منظم بدرجة PH معينة يحدث عندها تأثير كامل للمواد التي يتم فصلها PH حامض للقواعد ، PH قاعدي للأحماض كما يحتوى الطور المتحرك علي جوهر كشاف ذو شحنة مخالفة ومناسب للازدواج الأيدي حيث يستخدم أملاح تراي الكيل أمونيوم لربط المواد الحامضية، الكيل سلفونيك أسيد للمواد القاعدية ويتم فصل الزوجة الأيدي كجزئيات قطبية متعادلة.

٤-كروماتوجرافي التبادل الأيوني (IEC)

يستخدم لفصل المركبات الأيونية حيث يستخدم دعامة من السيلكا جيل أو بوليمر من مادة عضوية راتنجية. وقد وجد ان المجاميع الحمضية السلفونية السالبة ترتبط كيميائياً مع الدعامة منتجة أطوار لمبادلات كاتيونية حمضية قوية (SCX) كما ترتبط أيونات الأمونيوم الرباعية الموجبة مع الدعامة منتجة أطوار لمبادلات أنيونية قاعدية قوية (SAX) والدعابة الراتنجية الأكثر شيوعاً هي مقعد مشترك يحضر من Divinyl benzen (DVB) , Styrene ويكون الطور المتحرك من محاليل منظمة مائية.

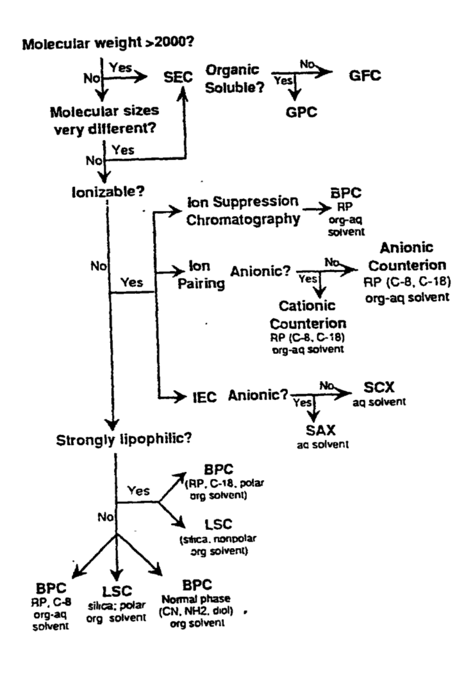
٥-كروماتوجرافي الأستبعاد الحجمي SEC

وبفصل الجزئيات علي أساس أختلافها في الحجم والشكل ولهذا فأنه لا يفصل المشابهات ويوجد تحت قسمين :

- كروماتوجراف النفاذ بالجيل (GPC)
- وكروماتوجرافي الترشيح بالجل (GFC) للمركبات القابلة للذوبان في الماء والتي تمتلك وزن جزيئ أعلي عن ٢٠٠٠ وبالرغم من أن متبقيات السموم بعيدة عن هذا الوزن الجزيئ إلا أن قد يستخدم كطريقة لتنقية السموم من المركبات ذات الوزن الجزيئ العالي.

وجدير بالذكر أن الطور الثابت بهذه الأنواع يكون من الجيل كمادة دعامية كبيرة الوزن الجزيئ وسائل ذو وزن جزيئ صغير حيث تتشابه خواص الطور المتحرك مع خواص سائل الطور الثابت في (GFC) ويتوقف الفصل علي أساس الأحجام الجزيئية فقط حيث تنفذ الجزيئات الصغيرة داخل شبكة الجيل متخللة التجاويف الشعرية مما يقلل من حركتها بالعمود بمصاحبة الطور المتحرك بينما الجزيئات الكبيرة الحجم يصعب مرورها داخل شبكة الجيل فتخرج بسرعة أكبر من العمود ويجب عدم حدوث تفاعل بين المواد المفصولة والطور الثابت.

ويوضح الشكل التالي (٨-٨) دليل مبسط لاختيار نموذج التشغيل :



<u>شكل (٨-٨)</u>: دليل الاختيار المبسط لنموذج التشغيل

المذيبات والجواهر الكشافة (Solvents & Reagents)

يتم اختيار الطور المتحرك تبعا لقدرته علي التوافق مع عمود الفصل المجدد للحصول علي كفاءة فصل عالية للمواد المراد تحليلها ويجب أن تكون المذيبات المستخدمة في تجهيز الطور المتحرك علي درجة عالية من النقاوة وهناك عوامل أخري هامة تتضمن التكلفة - اللزوجة - السمية - درجة الغليان - درجة نفاذ الأشعة خاصة إذا كان الكاشف المستخدم UV وعوامل الإنكسار خاصة إذا كان الكاشف المستخدم (Refractive index) - الضغط البخاري - درجة الوميض هذا بالإضافة إلي ما يتعلق بمركبات العينة وعموما فأن اختيار المذيبات والجواهر الكشافة لا يمكن أن يتم إلا بأخذ العوامل السابقة الذكر في الاعتبار.

ويجب وان يتوفر في المذيبات والجواهر الكشافة المستخدمة في خطوة التقدير وكذا المستخدمة في تجهيز العينة مايلي :

١- ألا تتسبب في انهيار المادة مجال التحليل أو تحدث معها تفاعلات كيميائية .

٢-ألا تسبب ضرر بعمود التحليل .

٣- ألا تسبب ضرر للكاشف .

٤- ألا تسبب شوشرة تؤدى لزيادة أو نقص استجابة الكاشف للمركب .

١-مشاكل الإجهاد (Potential problems)

تظهر كثير من المشاكل للطور المتحرك لوجود الشوائب والمواد الإضافية وكذلك الأتربة والمواد الجزئيية الأخرى والهواء الذائب مثل :

١-١- الانهيار (Degradation) :

قد تتحلل المواد المراد فصلها بالمذيبات والجواهر المستخدمة في خطوات الاستخلاص والتنقية أو أثناء التقدير ولذا يجب تجنبها وذلك من خلال المعرفة المسبقة لكيميائية المواد المراد تحليلها وقد يحدث تفاعل غير متوقع لوجودها فآثار من العوامل المؤكسدة في المذيبات تؤدى إلي تحليل مركبات N- methyl carbamate قبل التقدير .

١-٢- الغازات الذائبة (Dissolved Gasses) :

وجود الغازات الذائبة في المذيبات المستخدمة كطور متحرك تسبب مشاكل فقد تتجمع فقاقيع الغاز في المضخات أو بخلية الكاشف أو أي مواقع أخرى

بالجهاز فتؤثر على الضغط الواصل من المضخة كما قـــد تسـبب الفقـاقيع الكبيرة توقف تام للمضخة وقد تتأثر عمليات الكشف نفسها بعدة طرق فمثـــلا مع كاشف UV نجد أن الهواء يسب زيادة الضوضاء أو الامتصاص العـــالي كما أن الأكسيجين الذائب قد يتداخل مع الكاشف بالأطوال الموجية القصـــيرة لامتصاص الأكسجين للإشعاع تحت ٢٠٠ نانومتير وللتخلص من الغـــازات الذائبة يوضع الطور المتحرك تحـت ظـروف تفريـــغ Vacuum ، حــرارة وتقليب بالموجات فوق الصوتية وحاليا توجد وحدات تلحق تقوم بإزالتها .

١-٣- تلف بالأعمدة (Damage to columns) :

من السهل أتلافها بسوء الاستخدام فالقواعد يمكنها إزالة المجامع الفعالـــة وعلية يجب عدم استخدامها فالأطوار المرتبطة عادة تكون ثابتة في مدى pH يتروح بين ٢- ٨ كما أن الجزئيات الميكروسكوبية والكائنات الدقيقة يمكنـــها أتلاف شرائح العمود مما يؤدى لزيادة ضغط العمود تدريجيا ويغلق العمـــود تماما ولإزالة هذه الجزئيات يتم ترشيح محلول العينـــة والوســط المتحــرك واستخدام العمود الأولي المناسب والعمود الحارس لحماية عمود التحليل أمـــا الجزئيات الأقل من ٥ ميكرومتر ربما تفصل ببعض الأعمدة والكاشفات .

والأوساط المتحركة المحتوية على الماء أو المثيـــانول يمكنـــها إزالـــة السيلكا جيل بالأعمدة المرتبطة ولذا يجب استخدام الأعمدة الأولية المحتويـــة على السيلكا جيل حتى لا يتم إزلة مادة عمود التحليل .

وتلف الأعمدة بالجواهر المستخدمة في أعمدة الاشتقاق الثانوية يكـــون غير محتمل ولكنة قد يحدث فإذا توقف سريان الطور المتحرك فإن جواهـــر العمود الثانوي يمكنها أن تنتشر للخلف فتؤدى لفساد تعبئة العمود .

١-٤- ضرر الكاشفات (Damage to detectors) :

يختلف ضرر الجواهر مع كل كاشف فوجود غازات أو أكســـيجين بخليـــة الكاشف يؤثر على استجابته إلا أنها قد تؤثر أيضا على الكاشفات الإليكترونية كيميائيا والتي تعمل بنظام الاختزال لذا يتطلب نزعها من المذيبات فترشـيحها خلال فلتر(٢٢ ميكرومتر) ضروري في حالة الكشافات اللونية .

٢-المذيبات المتخصصة (Specific solvents)

٢-١-الماء (Water) :

يعتبر الماء المذيب الشائع الاستعمال وخاصة بالأطوار المتحركـــة RP ويعتبر من اصعب المذيبات للحصول والحفاظ علية في حالة نقية حيـــث أن

عدم النقاوة تؤثر في نتائج التحليل خاصة عند عمل الكاشفات بحساسية عالية وقد استخدمت أنظمة الماء (Millipor Millio Water) بدرجة كبيرة للتنقية وذلك بضخ الماء خلال أعمدة ترشيح من طبقات متتالية من الفحم النباتي لإزالة الشوائب العضوية ثم عمود منتجات تبادل ايونى لإزالة المواد الغير عضوية والعضوية المتأنية ثم عمود Q – Organcx لإزالة أي متبقيات عضوية ثم تمر العينة المائية على فلتر (٠,٢٢ ميكرومتر) لإزالة الجزئيات الميكروسكوبية والكائنات الدقيقة والتي لم تزال في المراحل السابقة حيث تخزن هذه المياه المنقاه في أوعية زجاجية نظيفة مع إضافة ٠,٠٢% Sodium azide أو اسيتيونتريل حيث إن الكائنات الدقيقة كالطحالب والبكتريا تتكاثر سرعة في الماء لذا يفضل التخلص من المياه المنقاة بعد كل أسبوع مع غسيل عمود بالميثانول تختبر من خلال الخطوات المتتابعة التالية :

- ضخ ١٠٠ مل ماء خلال عمود C.8 (١٦ سم × ٢ ملليمتر).
- يتم عمل متدرج خطى من صفر – ١٠٠% ميثانول بمعدل ١ مل / دقيقة لمدة ١٠ ق ثم التوقف لمدة ١٥ ق وذلك على كاشف Uv .
- إذا كان خط الأساس عند ٠,٠٨ (AUFS) أقل من ١٠% والمنحنيات القليلة جدا أقل من ٣ – ٥ % يلاحظ انحراف تدريجي كامل وهنا يكون الماء نقى تماما .

٢-٢-الاسيتونتريل (Acetonitrile) :

شائع استخدامه في الأطوار المتحركة (Rp) فمواصفات التصنيف لنقاوة المذيبات تكون معتمدة أساسا على ملاءمتها لكاشفات U.V بينما كاشفات الفلورسنس والتوصيل الكيميائي تكون مواصفاتها صعبة جدا .

٢-٣ – الميثانول (Methanol) :

مذيب شائع الاستخدام في Hplc – Rp ويماثل عدم ملائمة المواصفات كالاسيتونتريل ومن مساوىء الميثانول أحداث درجة من اللزوجة النسبية بالمحاليل الناتجة من مزجه بالماء فيسبب زيادة الضغوط العالية مقارنة بالأطوار المتحركة الأخرى .

٢-٤-مذيبات كلورونية (Chlorinated solvents) :

بعض هذه المذيبات ثابتة عند التحليل بالأكسدة بإضافة كميات قليلة من الميثانول يؤدي لزيادة قطبية الأطوار المتحركة وقصر وقت الإزاحة في عمود Np Hplc وقد تتأثر المقدرة على استعادة النتائج باختلاف تركيز المثبت

المضاف والذي يختلف من عبوة لأخرى وعلية يمكن شراؤها بدون مثبت أو إزالته بالامتصاص على الألومنيا أو باستخلاصه بالماء ثم تجفيفه والمذيبات الكلورونية الغير ثابتة تتحل ببطيء منتجة HCl الذي يعمل على انهيار الأعمدة وصدأ الصلب ويمكن إزالته بإمرار المذيب على السيلكا المنشطة أو كربونات كالسيوم .

٢-٥ – الإيثرات (Ethers) :

تحتوى على إضافات تعمل على ثباتها عند تكوين فوق أكاسيد فعلى سبيل المثال يتم تثبيت التتراهيدروفيوران بإضافة كميات قليلة من الهيدروكينون وقد لوحظ أن هذا المركب يمتص أشعة U.V ويمكن إزالته بتقطير المذيب بأقراص هيدروكسيد بوتاسيوم .

والجدول التالي يوضح أهم خصائص المذيبات المستخدمة :

جدول رقم (٨-١): أهم خصائص المذيبات الشائعة الاستخدام

Solvent	UV Cut-off nm	Refractive Index	Boiling Point, °C	Viscosity cP,25°C	Solvent Polarity Parameter P'	Solvent Strength Parameter ε°	Group
isooctane	197	1.389	99	0.47	0.1	0.01	—
n-hexane	190	1.372	69	0.30	0.1	0.01	—
methyl t-butyl ether	210	1.369	56	0.27	2.5	0.35	—
benzene	278	1.501	81	0.65	2.7	0.32	VII
methylene chloride	233	1.421	40	0.41	3.1	0.42	V
n propanol	240	1.385	97	1.9	4.0	0.82	II
tetrahydrofuran	212	1.405	66	0.46	4.0	0.82	II
ethyl acetate	256	1.370	77	0.43	4.4	0.58	VIa
chloroform	245	1.443	61	0.53	4.1	0.40	VIII
dioxane	215	1.420	101	1.2	4.8	0.56	VIa
acetone	330	1.356	56	0.3	5.1	0.56	VIa
ethanol	210	1.359	78	1.08	4.3	0.88	II
acetic acid		1.370	118	1.1	6.0	Large	IV
acetonitrile	190	1.341	82	0.34	5.8	0.65	VIb
methanol	205	1.326	65	0.54	5.1	0.95	II
water		1.333	100	0.89	10.2	Very Large	VIII

جدول رقم (٨-٢) :المجاميع التصنيفية للمذيبات

Group		Solvents
I		aliphatic ethers, methyl t-butyl ether*, tetramethylguanidine, hexamethylphosphoric acid amide, alkyl amines
II		aliphatic alcohols, methanol
III		pyridine derivatives, tetrahydrofuran, amides (except formamide), glycol ethers, sulfoxides
IV		glycols, benzyl alcohol, acetic acid, formamide
V		methylene chloride, ethylene chloride
VI	a)	tricresyl phosphate, aliphatic ketones and esters, polyesters, dioxane
	b)	sulfones, nitriles, acetonitrile, propylene carbonate
VII		aromatic hydrocarbons, toluene, halosubstituted aromatic hydrocarbons, nitro compounds, aromatic ethers
VIII		fluoroalcohols, m-cresol, water, chloroform

أعداد العينة (Sample preparation) :

١ – تنقية العينة (Sample clean up) :

تنقي محاليل العينة بإزالة الشوائب المرافقة لعمليات الاستخلاص ولتجنب أي أضرار تحدث حيث أن الحقن بمستخلصات غير نقية قد تضعف أو تفسد الأعمدة والكاشفات خاصة عند تحليل عدد كبير من هذه العينات فقد وجد أن الشوائب المتداخلة والذائبة في محلول العينة قد تظهر في كروماتوجرام الفصل كمنحنيات زائدة تتداخل مع المادة المحللة مما يجعل نتائج التحليل غير موثوق بها كما أن المواد المدمصة بشدة قد تؤثر على الخصائص الكروماتوجرافية للعمود فيسبب معها انحرافات بخط الأساس ومنحنيات مضللة ومن الممكن إزالة هذه الشوائب المدمصة بقوة من العمود قبل عملية الحقن التالية وذلك بدفع أحجام من مذيب قوى بنظام (Isocratic technique) وتعنى استخدام مذيب واحد فقط طول عملية الفصل أو بدفع مذيب أخر بعد المذيب السابق أعلى منه في القوة بنظام (Gradient technique) وتعنى

التغير التدريجي في تركيب المذيب المستخدم مع الزمن أو استخدام مذيبين طول عملية الفصل ثم يتبع ذلك أعاده الاتزان بالطور المتحرك المستخدم لذا يكون من الضروري التأكد من عمليات التنقية التي تسبق الحقن والتحليل .

٢ – ترشيح العينة (Sample filtration) :

نجد أن الأحجام الجزئيية في محلول العينة تؤثر بدرجة كبيرة في شرائح الأعمدة مقارنة بكروماتوجرافي الغازي بالإضافة إلى مقدمة العمود لذا يلزم إمرار العينات خلال جهاز ترشيح ذات مرشح بقطر ٥ ميكرومتر قبل الحقن وفى حالات التحليل المتعدد الدقيق تمر العينات على مرشح بقطر أقل من ١ ميكرومتر وفى بعض أنواع الكاشفات يجب الترشيح على مرشحات دقيقة لإزالة الجزئيات الأكبر من ٠,٢ ميكرومتر وحديثا يتم استخدام مرشحات توضع في مقدمة العمود (In line filters) لمنع سد شرائح العمود مع ضرورة التأكد من أن مادة التحليل لا تفقد خلال هذه المرشحات الوسيطة وخاصة في حالات التقدير الكمي لذا يجب تحليل عينات مقواه بتركيزات معلومة من المركب وتقدير معدلات استرجاعها.

٣ – العينة المذيبية منزوعة الغاز (Sample solvent degassing) :

يجب وأن تجهز العينات للحقن باستخدام مذيبات منزوعة الغاز بنفس الطريقة التي أعدت لمذيبات الأطوار المتحركة فتقل المشاكل السابقة ومحلول العينة نفسه يجب ألا يكون منزوع الغاز لان ذلك قد يغير من تركيزه.

٤ – اختبار مذيب العينة (Choice of sample solvent) :

يجب ذوبان العينة في الطور المتحرك حيث يؤدى ذلك إلى خفض حجم منحنى المذيب مما يسهل التعرف على منحنيات العينة المزاحة بسرعة كذلك نتجنب ترسيب العينة على أو قبل العمود مما يتسبب في فقد منحنيات العينة المحللة وظهور منحنيات مزاحة عشوائيا وغير معروفة على الكروماتوجرام ومزج العينات بالموجات فوق الصوتية يساعد إلى حد كبير في ذوبان العينة في الطور المتحرك أو في المحاليل المشابه .

وفي حالة إزالة العينة في مذيب مختلف عن الطور المتحرك فيجب أن يكون متوافق مع العمود وتركيب الطور المتحرك وإذا تطلب الأمر الحقن في مذيب قوى فيجب أن تكون حجم الحقن صغير حتى لا يتسبب قوة المذيب في إظهار تذليل بالمنحنيات .

٥ – المواد القياسية الداخلية (Internal standards) :

تستخدم بصورة شائعة في التحليلات لتقليل الأخطاء الناجمة عن الاختلافات في طريقة التحليل والتشغيل وكذا اختلافات عمليات الحقن ولاتستخدم بصورة عامة في تحليل مخلفات المبيدات والمواصفات الجيدة هي

- منحنى المادة القياسية يجب أن يكون مفصول تماما عن باقي المنحنيات مع الآخذ في الاعتبار أزاحتها بنفس الوقت الذي يتم أزاحه المركب المحلل خلاله.
- يجب أن تكون متقاربة في الخواص الكيماوية والتركيب مع المادة المحللة وتعطى استجابة مماثلة مع الكاشف المستخدم.
- يجب أن تكون ذات نقاوة عالية وخاملة كيميائيا.

المواد القياسية المرجعية (Reference standards) :

وهي مواد عالية النقاوة ومستخدمة في تحضير المحاليل القياسية الأساسية والمستخدمة في تحضير المحاليل القياسية العاملة (Working standard solutions) ومن المعروف أن المواد القياسية الصلبة تكون ثابتة بصفة عامة تجاه التحولات الكيميائية تحت ظروف الحفظ بالثلاجة أو المجمد ولما كانت طبيعية التقدير تجعله الطريقة المفضلة في تقدير كثير من المركبات الغير ثابتة والسهلة التحليل لذا فإن ثبات هذه المركبات في المذيبات المستخدمة في تحضير المحاليل القياسية تحتاج إلى عناية خاصة .

١–المحاليل القياسية الأساسية (Stock solutions) :

أساس اختيار المذيب المستخدم في تحضير المحاليل تكون هي نفسها الأسس المتبعة في اختيار المذيب الذي سيتم حقن العينات به وإذا كانت القابلية للثبات تسمح فإنه يفضل المحاليل القياسية في الطور المتحرك المستخدم في نظام التحليل ومع ذلك نجد أن كثير من المبيدات تكون ذات ثبات محدود في المذيبات كالميثانول أو الماء والتي غالبا ما تستخدم في الأطوار المتحركة كما بالمبيدات الفطرية (Thiophanate methyl ، Captan ، Folpet ، Captasol) والتي يمكن تخزينها لفترات غير محدده في البنزين والأسيتون والايزو أوكتان ولكنها سريعا ما تتحلل عند تخزينها في الميثانول / ماء . وقد وجد أن البنزين يعتبر مذيب جيد لمعظم المبيدات القياسية ولكن سميته تجعلنا لا ننصح باستخدامه ويعتبر الايزوأوكتان والهكسان مذيبات

جيدة لمعظم المبيدات الكلورونية العضوية كما أن انخفاض نسبة التطاير للايزوأوكتان تقلل من نسبة الفقد بالتبخير أثناء التخزين ونجد انه لا ينصح باستخدامه أيضا في الحالات التي يتطلب فيها تبخيره للإذابة في الطور المتحرك كما لوحظ أن الكلوروفورم يكون مفيد في استخدامه مع الترايازنيلت كما يفيد المثلين كلوريد أو الميثانول مركبات الكاربامات والاسيتون للمبيدات الفطرية القريبة للبنزيميدازول والميثانول لمبيدات الحشائش كالفينيل يوريا .

وأهم مشاكل سلامة المحلول القياس ترجع إلى تبخير المذيب وعدم الثبات لذا يكون من الضروري عمل محاليل قياسية أساسية وبصفة دورية ونتيجة لاستخدام كميات ضئيلة من المواد القياسية (> ١٠٠ مجم) يلزم استخدام ميزان حساس والتحضير المباشر للمحاليل المخففة بهذه الطريقة يقلل من عدد التخفيفات اللازمة لعمل المحاليل القياسية العاملة من المحلول القياس الأساس.

٢-المحاليل القياسية العاملة (Working standard solution) :

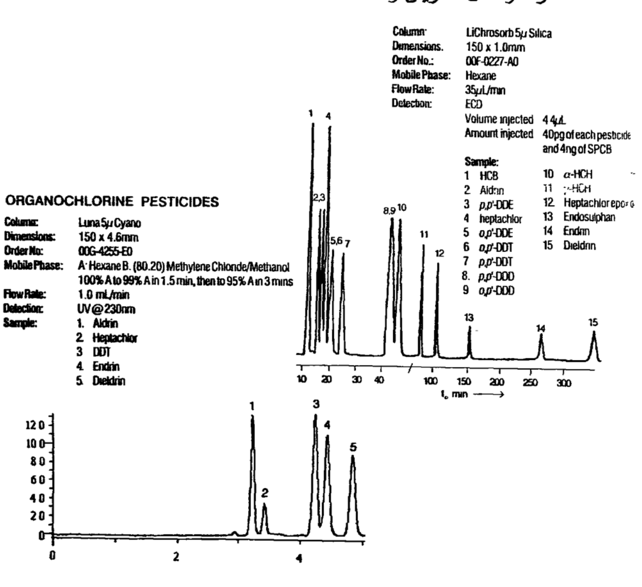
وتحضر بتركيزات مناسبة للكشف وفي حدود المستويات المتوقعة للمخلفات في مستخلصات العينات فلابد وأن تكون قريبه جدا لما هو موجود في المستخلص ليسهل مقارنة مساحات أو ارتفاع المنحنيات . وفي حالات الكشف المتعدد للمتبقيات يتم عمل المحاليل القياسية العاملة كمخاليط قياسية للتحليل بالطريقة المتبعة مع التأكد من ثبات المحاليل القياسية العاملة بصفة دورية وذلك من خلال مقارنتها بالمحاليل المحضرة حديثا أو بالتخفيفات الحديثة للمحاليل القياسية وأيضا فإن المذيبات المستخدمة مع المحاليل القياسية العاملة يجب أن تتوافق أيضا مع مذيب العينات والجهاز مع مراعاة فحصها للتأكد من عدم تلوثها والذي قد يؤثر في نتائج التحليل .

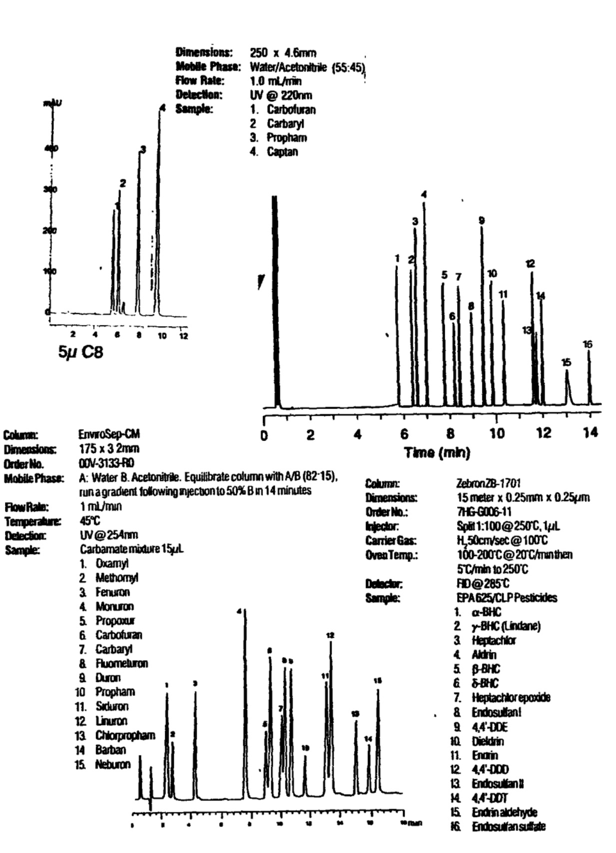
٣-التخزين (Storage) :

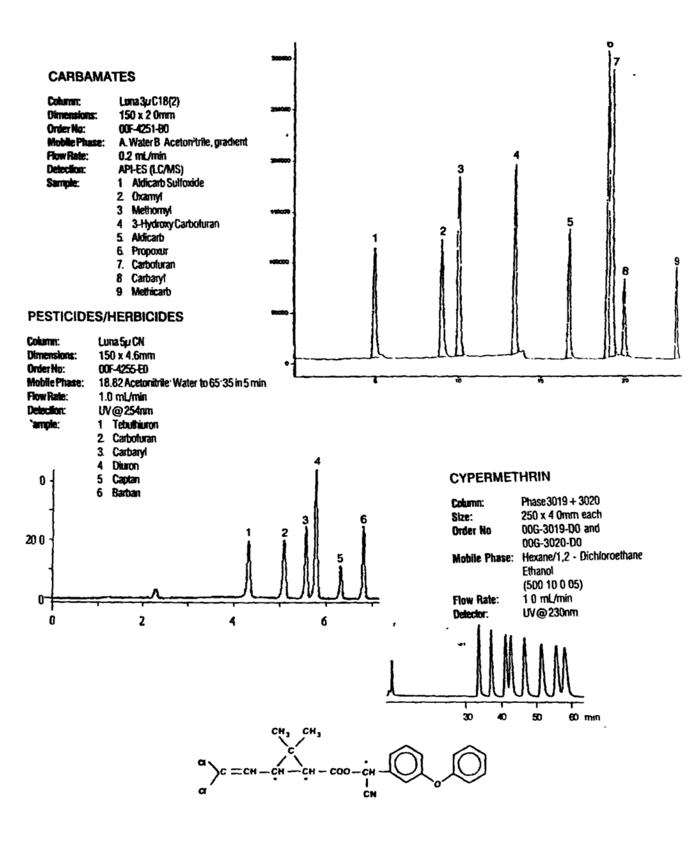
يجب تخزين المحاليل القياسية في ثلاجات على درجات أقل أو تسلوى ٤ م ويلاحظ أن محاليل البنزين يمكن أن تتجمد في هذه الدرجات وقد يؤدى ذلك إلى كسر الأوعية الخاصة بها ويتم تخزين المحاليل القياسية الأساسية للمتبقيات الكلورونية العضوية لمدة ٦ شهور على الأقل دون أن يحدث لا لها ضرر أما محاليل الكاربامات والفوسفورية العضوية تكون أقل ثباتا ويجب استبعادها كل ٣ – ٤ شهور من التحضير وبعض المحاليل القياسية الأخرى نجد أنها لا تقبل التخزين لذا يجب تحضرها عند الاستخدام مباشرة.

التقدير الوصفي والكمي (Qualitative & Quantitative determination) :

يتم التعريف والتقدير الكمي للعينات التي تم فصلها هنا بطرق مماثلة لتلك المستخدمة في جهاز الكروماتوجرافي الغازي والتي تعتمد على مطابقة قيمة فترة الاحتجاز أو فترة الاحتجاز النسبي لمركبات العينات القياسية المفصولة مع قيم العينات مجال التعريف والتقدير (تقدير وصفى) والمقصود تحت نفس ظروف الفصل للمركبات القياسية كما ويحدث التحليل الرياضي للمنحنيات والتقدير الكمي للمركبات المفصولة والمعرفة تعريفا مبدئيا بنفس الطرق التي سبق ذكرها وفيما يلي استعراض مبسط لبعض السموم والملوثات البيئية بمجاميع مختلفة متضمنة العمود المستخدم والطور المتحرك ومعدل السريان والكاشف .




Dimensions: 250 x 4.6mm
Mobile Phase: Water/Acetonitrile (55:45)
Flow Rate: 1.0 mL/min
Detection: UV @ 220nm
Sample: 1. Carbofuran
2 Carbaryl
3. Propham
4. Captan
mAU
5µ C8
Time (min)
Column: EnviroSep-CM
Dimensions: 175 x 3 2mm
Order No. 00V-3133-R0
Mobile Phase: A: Water B. Acetonitrile. Equilibrate column with A/B (82:15), run a gradient following injection to 50% B in 14 minutes
Flow Rate: 1 mL/min
Temperature: 45°C
Detection: UV @ 254nm
Sample: Carbamate mixture 15µL
1. Oxamyl
2 Methomyl
3 Fenuron
4 Monuron
5 Propoxur
6 Carbofuran
7 Carbaryl
8 Fluometuron
9 Duron
10 Propham
11 Siduron
12 Linuron
13 Chlorpropham
14 Barban
15 Neburon
Column: Zebron ZB-1701
Dimensions: 15 meter x 0.25mm x 0.25µm
Order No.: 7HG-G006-11
Injector: Split 1:100 @ 250°C, 1µL
Carrier Gas: H2 50cm/sec @ 100°C
Oven Temp.: 100-200°C @ 20°C/min then 5°C/min to 250°C
Detector: FID @ 285°C
Sample: EPA 625/CLP Pesticides
1. α-BHC
2 γ-BHC (Lindane)
3 Heptachlor
4 Aldrin
5 β-BHC
6 δ-BHC
7. Heptachlor epoxide
8 Endosulfan I
9 4,4'-DDE
10 Dieldrin
11. Endrin
12 4,4'-DDD
13 Endosulfan II
14 4,4'-DDT
15 Endrin aldehyde
16 Endosulfan sulfate



CARBAMATES
Column: Luna 3µ C18(2)
Dimensions: 150 x 2 0mm
Order No: 00F-4251-B0
Mobile Phase: A. Water B Acetonitrile, gradient
Flow Rate: 0.2 mL/min
Detection: API-ES (LC/MS)
Sample: 1 Aldicarb Sulfoxide
2 Oxamyl
3 Methomyl
4 3-Hydroxy Carbofuran
5 Aldicarb
6 Propoxur
7 Carbofuran
8 Carbaryl
9 Methicarb
PESTICIDES/HERBICIDES
Column: Luna 5µ CN
Dimensions: 150 x 4.6mm
Order No: 00F-4255-E0
Mobile Phase: 18.82 Acetonitrile: Water to 65:35 in 5 min
Flow Rate: 1.0 mL/min
Detection: UV@254nm
Sample: 1 Tebuthiuron
2 Carbofuran
3 Carbaryl
4 Diuron
5 Captan
6 Barban
CYPERMETHRIN
Column: Phase 3019 + 3020
Size: 250 x 4 0mm each
Order No 00G-3019-D0 and 00G-3020-D0
Mobile Phase: Hexane/1,2 - Dichloroethane Ethanol (500 10 0 05)
Flow Rate: 1 0 mL/min
Detector: UV@230nm
30 40 50 60 min

مصطلحات

(A)

abraded كشط
absorption الامتصاص
acaricide مبيد أكاروسى
accidental residue المخلفات العرضية
accuracy دقة
acidophile محب للحموضة
acidosis الحامضى (الحموضة)
activation تنشيط
active ingerdient(a.i.) مادة فعالة
acute residute المتبقي الفطي(مخلفات)
additive اضافى
additive action فعل اضافي
adherence التصاق
adhesive مادة لاصقة
adhesion الالتصاق
adjuvant مادة اضافية
aerobic هوائى
adipositas cordis التهاب النسيج الدهنى
agricultural chemicals
الكيماويات الزراعية
agricultural chemicals of crop persistence
الكيماويات الزراعية الثابتة علىالمحاصيل
agricultural chemicals of Soil persistence
الكيماويات الزراعية الثابتة علىالتربة
agricultural chemicals of Water pollution
الكيماويات الزراعية الملوثة للماء
air elutriation تنقية الهواء
airless spray الرش الهوائي
air pollution تلوث الهواء
air quality standerd النوعية القياسية للهواء
alkali flame thermionic detctor (AFTD)
كشاف الايونات الحرارى ذو اللهب القلوي
aikalosis التحلل القلوي
allergec reaction test اختبار قياس الحساسية
allergec test اختبار الحساسية
alteration التبديل
amount of residue كمية المخلفات
angle of contact زاوية التماس
aninonic group المجموعة الايونية
anticaking agent مادة مانعة للتعجن
applicable concentration التركيز المستخدم
application التطبيق
application dosage الجرعة المستخدمة
application rate معدل الاستخدام
application time وقت التطبيق
aquatic life الحياة المائية
aqueous solution محلول مائي
aromatic ring حلقة عطرية
assay of residue تقدير المخلفات

(B)

background residue المخلفات القديمة
behavior in soil السلوك في التربة
behavior pattren نمط السلوك
biochemical oxygen demand (BOD)
الأوكسجين الحيوي الكيماوي المطلوب
biodegradation الانهيار الحيوى
biological breakdown الهدم الحيوى
biological concentration التركيز الحيوى
biological magnification التضخم الحيوى
bleeding الادماء - الانزاف
blotch بثرة- لطخة
boiling point نقطة الغليان
brain stem ساق المخ
breakdown التحطم
bulk density الكثافة الظاهرية

(C)

caking	التعجن
calibration	منحنى المعايرة
carbamate insecticide	مبيد كاربماتي
carrier	مادة حاملة
catabolin	الايض الهدمي
caucative agent	عامل مسبب
chemical control	المكافحة الكيماوية
chmical decomposition	التحلل الكيماوى
chemical injury	الضرر الكيماوى
chemical name	الاسم الكيماوي
chronic intoxication	تسمم مزمن
calssification	تقسيم - تصنيف
coarse dust	مسحوق خشن
coefficient of selectivity	معامل الاختيارية
coefficient of viscosity	معامل اللزوجة
cohesive force	قوة الالتصاق
combination	الخلط
combined application	التطبيق المشترك
common name	الاسم الشائع
compatibility	القابلية للخلط
concentrate application	استخدام المركزات
conjugation	الاقتران
conjunctive	رابط
contact angle	زاوية التماس
contamination	التلوث
conventional	تقليدي
convulsive seizure	نوبة تشنجية
corrosion	تآكل
critical period	الفترة الحرجة
cylinder-type granule	المادة حبيبة الاسطوانية

(D)

decarboxylation	فقد مجموعة الكربوكسيل
decomposition	التحلل
decomposition product	ناتج التحلل
degradation and persistence curve	منحنى الانهيار والثبات
degradation product	ناتج الانهيار
degradative pathway	مسار الانهيار
delivery	توزيع
deposit distribution	توزيع الراسب
deposit efficiency	كفاءة الاستقرار للرواسب
deposition	الاستقرار
deposit ratio	معدل الترسيب
derivative	مشتق - مادة ثانوية
desiccant	مادة مجففة
desorption	الانفراد
detoxcation	فقد السمية
detoxcation method	طريقة ازالة السمية
detoxcation therapy	علاج ازالة السمية
diffusion	الانتشار
diffusion coefficient	معامل الانتشار
diluent	مادة جافة
dilution	تخفيف
dilution ratio	معدل التخفيف
dipping method	طريقة النقع أو الغمر
disappearance curve	منحى الاختفاء
dispersion	التشتت
disposal	التخلص من النفايات
disipation	اختفاء
dissociation factor	عامل التفكك
distribution	توزيع
dose	الجرعة
drift	انتشار الرياح
Drift hazard	خطر انتشار الرياح
duea mater	الأم الجافية
dust diluent	مسحوق مجفف

(E)

ecosystem النظام البيئى
electric charge شحنة كهربية
electron transport system نظام نقل الالكترونات
electrophoresis الهجرة الكهربية
elimination ازالة
elution ازاحة - تحريك
elutriation ترويق
emission standred معايير الانبعاث
emulsibility القابلية للاستحلاب
emulsifier مادة مستحلبة
emulsifying agent مادة تساعد على الاستحلاب
emulsion مستحلب
endbain الدماغ الانتهائى
environmenral poisoning التسمم البيئى
environmenral contaimination (Pollution) التلوث البيئى
environmental quality standerd قياس نوعية البيئة
erosion تآكل
evaporation تبخير
extraction الاستخلاص

(F)

fine granule حبيبات ناعمة
flame ionization dector (FID) كاشف الاشعاع الايونى
flame photometric dector (FPD) كاشف الاشعاع الضوئي (اللهب)
flame thermionic dector (FTD) كاشف الاشعاع الايونى حرارى
flowability القابلية للانسياب
formulation مستحضر المبيد

(G)

general behavior السلوك العام
global ecosystem النظام البيئي الشامل
grinding يطحن- مطحون
guideline - index الدليل

(H)

high temperature incinteration الحرق في درجات الحرارة العالية
hydrolysate منحل بالماء (هيدروليزات)
hydrolytic cleavage ناتج عن الانحلال المائي
hydroide ion ايون الايدريد
hydrolysis التحلل المائى
hydrophilic-lipophil balance التوازن المائى الدهنى
hydrophilic property صفات حب الماء
htdrophobic property صفات حب الدهون
hydroxylation الهيدروكسلة
hydroxy group مجموعة الايدروكسيل

(I)

identification	تعريف
impurity	شوائب
inactivation	تعطيل النشاط
incidence	حدوث - ورود
incorporation	اندماج
induction	تأثير أو فعل
inert	خامل
intret ingredient	مادة خاملة
infilrate	يرشح - رشاحة
inhibition	تثبيط
injection	حقن
inorganic	غير عضوى
in situ	فى موضعة
intermediate metabolite	ناتج تمثيل وسيط
internal residue	بقايا داخلية
inversion	انقلاب
irradiation	تشعيع
isolation	عزل
isomer	مشابه
isomerization	تشابة
isozyme	شبيه الانزيم

(K)

kuderna-danish evaporative concentrator	جهاز تبخير لتركيز المستخلصات

(L)

latent period	الفترة المتأخرة
leakage	التسرب
ligament	الرباط
liquid fromulation	مستحضر سائل
liquid medium	وسط سائل
low volume	حجم القليل
lytic reaction	تفاعل انحلالي

(M)

maceration	تقطيع
main effect	التأثير الرئيسى
masa transfer	انتقال الكتلة
metabolic product	ناتج ايضى (ناتج تمثيلى
metabolism	التمثيل (الايض)
metabolite	ناتج تمثيل
method of multiplying the peak height by the half-wide	طريقة ضرب ارتفاع قمة المنحني في نصف العرض
minimum detectable amount	أقل كمية يمكن تقديرها
mist spray	رش على صورة رذاذ
mixing	خلط
mixture	مخلوط
mode of action	طريقة أو كيفية الفعل
moisture content	محتوى الرطوبة
molecular weight	الوزن الجزيئى
monitoring	تحكم

(N)

nature conservation	صيانة طبيعية

(O)

overall treatment	معاملة مباشرة
oxidation	الاكسدة
oxident	مادة مؤكسدة
ozonosphere	الطبقة الاوزونية

(P)

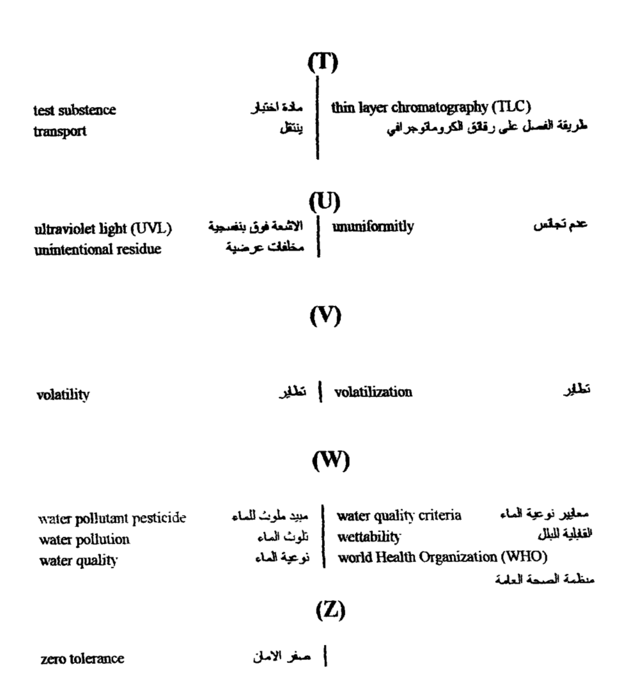
parent compound	مركب اساسي
paresthesia	تشويش الحس
particle size	حجم الجسيمات
particle size distribution	توزيع حجوم الجسيمات
paste	معجون(عجينة)
penetration	نفاذية
pesticide pollution	التلوث بالمبيدات
pesticide poisoning	التسمم بالمبيدات
pesticide residue	مخلفات المبيدات
photolysis	انحلال بالضوء
photosynthssis	تخليق أو بناء ضوئى
poison	سم
pollution	تلوث
polymerization	البلمرة(تضاعف الاصل)
primary emission	انبعاث أولي

(R)

rapid action	الفعل السريع
rate constant	ثابت المعدل
recombination	اعادة الاتحاد
registration	تسجيل
residual activity	نشاط المتبقيات
residual persistence	ثبات المحلفات
residual toxicity	سمية المخلفات
residue	المخلفات
residue analysis	تحليل المخلفات

(S)

shortwavelength light	ضوء ذوموجات قصيرة
side-effect	تأثير جانبى
significant difference	اختلاف معنوي
sinuses	جيوب
smog	طبخن
smoking	تدخين
solubility	الذوبان
solution	محلول
solvent	مذيب
solubilizaton	الذوبانية
specific geavity	الكثافة النوعية
spot	بقعة- الطخة
stability	ثبات
stablizer	مثبت
standerd dwviation	الانحراف القياسي
standerd substance	مادة قياسية
stripping=extracting operation	عملية الاستخلاص
substrate	مادة تفاعل
surface tension	الجذب السطحى
synergism	تنشيط
spary	رش
speader facor	عامل الانتشار



(T)

test substence مادة اختبار
transport ينتقل
thin layer chromatography (TLC)
طريقة الفصل على رقائق الكروماتوجرافي

(U)

ultraviolet light (UVL) الاشعة فوق بنفسجية
unintentional residue مخلفات عرضية
ununiformitly عدم تجانس

(V)

volatility تطاير
volatilization تطاير

(W)

water pollutant pesticide مبيد ملوث للماء
water pollution تلوث الماء
water quality نوعية الماء
water quality criteria معايير نوعية الماء
wettability القابلية للبلل
world Health Organization (WHO)
منظمة الصحة العالمية

(Z)

zero tolerance صفر الامان

المراجع

المراجع العربية

التحليل الطيفي للأنظمة
الكيميائية والبيوكيميائية

أ.د عبد المنعم محمد الأعصر
دار البحر الأبيض المتوسط للنشر

الملوثات البيئية والسموم
الديناميكية و إستجابة الجهاز الهضمي لها
أ.د. فتحي عبد العزيز عفيفي
دار الفجر للنشر و التوزيع

ديناميكية السموم والملوثات البيئية
و إستجابة الجهاز التنفسي والدوري لها
أ.د. فتحي عبد العزيز عفيفي
دار الفجر للنشر والتوزيع

التلوث البيئي والسموم
الديناميكية وإستجابة الجهاز العصبي لهما
أ.د. فتحي عبد العزيز عفيفي
دار الفجر للنشر والتوزيع

السموم والملوثات البيئية
الديناميكية وإستجابة الجهاز البول تناسلي لها
أ.د. فتحي عبد العزيز عفيفي
أ.د.عصمت محمد كامل
دار الفجر للنشر والتوزيع

أسس علم السموم
أ.د. فتحي عبد العزيز عفيفي
دار الفجر للنشر والتوزيع

- **دورة السموم والملوثات البيئية**
في مكونات النظام البيئي

أ.د. فتحي عبد العزيز عفيفي
دار الفجر للنشر والتوزيع

REFERENCES

Anson Moye , H. (Ed) : (1981) : Analysis of Pesidues
Jone Wiley & Sons,Inc., New York Chichester
/Brisbane/Toronto.

Burchfeild, H.P. and D.E.(Ed) : (1965) : Guide to the Analysis of Pesticide
Residues>
Puplic Health Service, U.S. Department of Health
Education and Welfare

Cairns,T. and R. Jacobsen : (1978) : Mass Spectral Data Compilation of
Pesticides and Industrial Chemicals
U.S. Food and Drug Admin., Los Angeles.

Cook, J.W. and S. Williams, : (1966) :" Pesticide Residue Analysis"
Standard Methods of Chemical Analysis Vol. 111
Chap56
Van Nostrand Co.. Princeton, New Jersey.

Darid, O.J. : (1974) : Gas Chromatographic Detectors
Wiley- Interscience. New York.

Del Nogar, S. and R.S. Juvet : (1965) : Gas-liquid Chromatography theory
And Practice .
Wiley- Interscience, New York.

Environmental Protection Agency : (1974) : Pesticide Residue Analysis in
Water .
Training Manual ,EPA Cincinnati OH.

. Environmental Protection Agency : (1980) : Manual of Analytical Methods
for the Analysis of Pesticides in Humans and
Environmental Samples
EPA –600 / 8-80 – 038

Getz , M.E. : (1971) : methods in Residue Analysis.
Pesticide Chemistry Vol 4 (A.S. Tahori ,Ed).
Gordon and Breach New York .

Gudzinowicz, B. J,, : (1967) : Gas Chromatographic of analysis of Drugs and
Pesticides.
Marcel Dekker, New York.

Gunther F.A. and R.C. Blinn, : (1975) : Analysis of Insecticides and
Acericide, A Treatise ,on Sampling. Isolation
and Determination including Residue Methods.
Interscience Publishers New York.

Haque, R. and F.J. Biros : (1974) : Mass- Spectrometry NMR Spectromrty in
pesticide Chemistry
Plenum Press New York.

Keith L.W. (Ed) : (1976) : Identification and Analysis of Organic Pollutants
In Water.
Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor,
Michigan .

Littlewood , : (1970) : Gas Chromatography Principles, Techniques and
Applications, 2 nd ed
Academic Press, New York.

Mann , J.B. : Manual For Training in Pesticide Analysis.
AID/ TA. C-1195

Mc Fadden . W.H : (1973) : Techniques of Combined GC/ MS
Willey Interscience, New York

Thompson, J.F. (Ed), : (1974) : Analysis of Pesticide Residue in Human and
Environmental Samples.
A Compilation of Methods Selected for use in
Pesticide Programs
Research Triangle Park , North Carolina

Zewig, G. , : (1977) : Analytical Methods for Pesticides,
Plant Growth Regulators and Food Additives
Vols 1-9
Academic Press, New York

هذا الكتاب

لقد تعاظم دور عملية التحليل الدقيق والمتعدد لمتبقيات السموم والملوثات البيئية فى مكونات النظام البيئى الآن بعد أن غدت مشكلة التلوث البيئى الذى لا يعترف بأى حدود من أخطر المشاكل على مستوى العالم، حيث تغلغلت السموم والملوثات البيئية فى كل مكونات النظام البيئى حتى أصبح الإنسان لاجئ بيئته.

والله نسأل أن يكون هذا الكتاب إضافة لها ثقلها ومرجعا يستفيد منه العاملون الباحثون فى هذا المجال. والذى تفتقره تماما مكتبتنا العربية. كالكيميائيين والزراعيون وطلبة الدراسات العليا وكافة المهتمون بعلوم وشئون البيئة.

والله ولى التوفيق

الناشر

عبد الحي أحمد فؤاد

صدر أيضا للناشر

دار الفجر للنشر والتوزيع

4 شارع هاشم الأشقر ـ النزهة الجديدة ـ القاهرة

تليفون: 2944119 فاكس: 2944094

I.S.B.N
977-5499-61-5